

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK SARANG LEBAH DAN MADU  
HUTAN DARI KOLAKA TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI  
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, *ESCHERICHIA COLI*  
DAN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA***



**Skripsi**

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Meraih Gelar Sarjana Sains Kimia  
Pada Jurusan Kimia Pada Fakultas Sains dan Teknologi  
UIN Alauddin Makassar

Oleh:

**IKA PRESTIANTI**  
NIM: 60500113065

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI ALAUDDIN**  
**MAKASSAR**  
2017

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Mahasiswa yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ika Prestianti  
NIM : 60500113065  
Tempat/ Tgl Lahir : Woimenda/ 05 Oktober 1996  
Jurusan : Kimia  
Fakultas : Sains dan Teknologi  
Alamat : BTN Villa Samata Sejahtera Blok B2/41, Samata, Gowa  
Judul : Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Sarang Lebah dan Madu Hutan dari Kolaka terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Menyatakan dengan sesungguhnya dan penuh kesadaran penuh bahwa skripsi ini benar adalah hasil karya sendiri. Jika dikemudian hari terbukti bahwa skripsi merupakan duplikat, tiruan, plagiat atau dibuat oleh orang lain, sebagian atau seluruhnya, maka skripsi dan gelar yang diperoleh karenanya batal demi hukum.

Samata-Gowa, Agustus 2017

Penyusun



Ika Prestianti

NIM : 60500113065

## PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Sarang Lebah dan Madu Hutan dari Kolaka Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*” yang disusun oleh Ika Prestianti, NIM : 60500113065 mahasiswa jurusan Kimia pada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar, telah diuji dan dipertahankan dalam sidang munaqasyah yang diselenggarakan pada hari senin 21 Agustus 2017 bertepatan 28 Dzulqaidah 1438 H, dinyatakan telah dapat diterima sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana dalam Ilmu Kimia, jurusan Kimia (dengan beberapa perbaikan).

Samata-Gowa, 21 Agustus 2017

28 Dzulqaidah 1438 H

### DEWAN PENGUJI :

Ketua	: Dr. Wasilah, S.T., M.T	(.....)
Sekretaris	: Aisyah, S.Si., M.Si	(.....)
Munaqisy I	: Asriani Ilyas, S.Si., M.Si	(.....)
Munaqisy II	: H. Asri Saleh, ST., M.Si	(.....)
Munaqisy III	: Dr. Tasmin Tangngareng, M.Ag	(.....)
Pembimbing I	: Dr. Maswati Baharuddin, S.Si., M.Si	(.....)
Pembimbing II	: Sappewali, S.Pd., M.Si	(.....)

Diketahui oleh :

Dekan Fakultas Sains dan Teknologi  
UIN Alauddin Makassar



Prof. Dr. H. Arifuddin, M.Ag  
NIP : 19691205 199303 1 001

## KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Assalamu ‘alaikum wr. wb

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah swt yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga skripsi yang berjudul “**Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Sarang Lebah dan Madu Hutan dari Kolaka terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa***” ini dapat terselesaikan dengan penuh perjuangan dan doa, sekaligus menjadi syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu di Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar.

Salam dan shalawat atas junjungan Nabi Besar Muhammad saw, nabi yang telah membawa umat manusia dari alam kegelapan menuju kealam terang benderang, beserta orang-orang yang senantiasa istiqamah dijalan-Nya. Terima kasih penulis ucapkan kepada seluruh pihak yang telah membantu dalam proses penelitian skripsi ini. Untuk itu, iringan doa dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada ibunda Baruwati Tasrif untuk nasihat, motivasi dan dukungan yang selalu membangkitkan semangat untuk ananda tercinta serta keluarga atas doa dan kesabarannya serta dukungan material kepada penulis. Terima kasih juga penulis ucapkan kepada :

1. Bapak Prof. Dr. H. Musafir Pababbari, M.Si, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

2. Bapak Prof. Dr. Arifuddin, M.Ag, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
3. Ibu Sjamsiah, S.Si., M.Si., Ph.D, selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
4. Ibu Aisyah, S.Si., M.Si, selaku sekretaris Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
5. Ibu Dr. Maswati Baharuddin, M.Si, selaku pembimbing I yang berkenan memberikan kritik dan saran serta bimbingan dari awal penelitian hingga akhir penyusunan skripsi ini.
6. Bapak Sappewali, S.Pd., M.Si, selaku pembimbing II yang telah berkenan meluangkan waktu dan tenaganya dalam membimbing dari awal penelitian hingga akhir penyusunan skripsi ini.
7. Ibu Asriani Ilyas, S.Si., M.Si., bapak H. Asri Saleh, ST., M.Si dan bapak Dr. Tasmin Tangngareng, M. Ag selaku penguji yang senantiasa memberikan kritik dan saran guna menyempurnakan skripsi ini.
8. Segenap Dosen Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar yang telah membantu dan memberikan ilmu kepada penulis.
9. Musyawirah Baharuddin, S.Pd selaku staf Jurusan Kimia dan seluruh staf karyawan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar yang telah membantu dalam persuratan demi terselenggaranya skripsi ini.

10. Para laboran Jurusan Kimia, Kak Awaluddin Ip, S.Si., M.Si, kak Ahmad Yani, S.Si, Kak Andi Nurahma, S.Si, Kak Ismawanti, S.Si, Kak Nuraini, S.Si dan terkhusus untuk Kak Fitria Azis, S.Si., S.Pd terima kasih banyak atas bantuan dan dukungannya.
11. Sahabat seperjuangan Nabila Aliyah Idris, Hartini, Wahida Febriya Ramadhani, Muharam sekaligus saudara seperjuangan di Kimia 2013 terkhusus teman-teman penelitian di Laboratorium Biokimia, segenap senior dari angkatan 2012 juga junior angkatan 2014 serta semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

Akhir kata, semoga skripsi ini bermanfaat bagi semua pihak dan dapat bernilai ibadah di sisi-Nya. Amin ya Rabbal Alamin.

**Wassalamu ‘alaikum wr. wb**



Makassar, Agustus 2017

Penulis

## DAFTAR ISI

JUDUL .....	i
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI .....	ii
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI .....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	ix
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
ABSTRAK .....	xiii
ABSTRACT .....	xiv
BAB I PENDAHULUAN .....	1-6
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	6
C. Tujuan Penelitian .....	6
D. Manfaat Penelitian .....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	7-24
A. Tinjauan Umum Sarang Lebah .....	7
B. Tinjauan Umum Madu Hutan .....	9
C. Ekstraksi .....	11
D. Metabolit Sekunder .....	13
E. Bakteri .....	17
F. Antibakteri .....	22

BAB III METODELOGI PENELITIAN .....	25-29
A. Waktu dan Tempat Penelitian .....	25
B. Alat dan Bahan Penelitian.....	25
C. Prosedur Kerja .....	26
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	30-55
A. Hasil Pengamatan .....	30
B. Pembahasan.....	39
BAB V PENUTUP .....	56
A. Kesimpulan .....	56
B. Saran.....	56
DAFTAR PUSTAKA .....	57-60
LAMPIRAN .....	61-79
BIOGRAFI	





## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur Dasar Flavonoid .....	15
Gambar 2.2	Struktur Kerangka Asam Fenolat .....	17
Gambar 2.3	Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	19
Gambar 2.4	Bakteri <i>Escherichia coli</i> .....	21
Gambar 4.1	Mekanisme Reaksi Senyawa Flavonoid dengan $H_2SO_4$ .....	41
Gambar 4.2	Reaksi Uji Fenolik .....	42
Gambar 4.3	Reaksi Tanin dengan $FeCl_3$ .....	43
Gambar 4.4	Diagram Diameter Daya Hambat Ekstrak Metanol Sarang Lebah Pada Inkubasi 24 Jam .....	44
Gambar 4.5	Diagram Diameter Daya Hambat Ekstrak Metanol Sarang Lebah Pada Inkubasi 48 Jam .....	45
Gambar 4.6	Diagram Diameter Daya Hambat Ekstrak Metanol Sarang Lebah Pada Inkubasi 72 Jam .....	45
Gambar 4.7	Diagram Diameter Daya Hambat Ekstrak Etil Asetat Sarang Lebah Pada Inkubasi 24 Jam .....	47
Gambar 4.8	Diagram Diameter Daya Hambat Ekstrak n-Heksan Sarang Lebah Pada Inkubasi 24 Jam.....	48
Gambar 4.9	Diagram Diameter Daya Hambat Ekstrak n-Heksan Sarang Lebah Pada Inkubasi 48 Jam.....	49
Gambar 4.10	Diagram Diameter Daya Hambat Ekstrak n-Heksan Sarang Lebah Pada Inkubasi 72 jam .....	49
Gambar 4.11	Diagram Diameter Daya Hambat Ekstrak Metanol Madu Hutan Pada Inkubasi 24 Jam.....	51
Gambar 4.12	Diagram Diameter Daya Hambat Ekstrak Metanol Madu Hutan Pada Inkubasi 48 Jam.....	51

Gambar 4.13	Reaksi penguraian fosfolipida pada membran sitoplasma bakteri oleh flavon .....	54
-------------	--	----

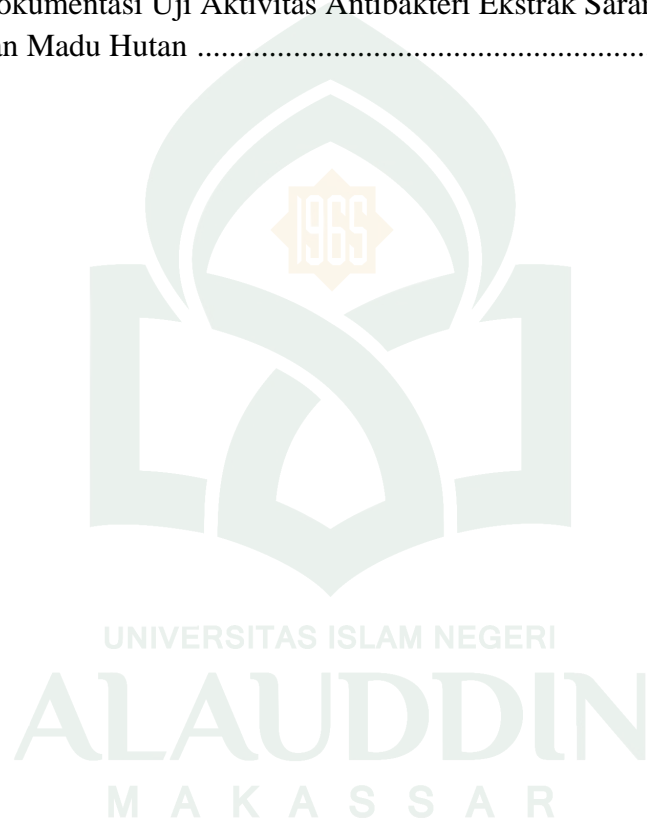


## DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Hasil Evaporasi Ekstrak Sarang Lebah dan Madu Hutan .....	30
Tabel 4.2	Hasil Uji Skrining Fitokimia Sarang Lebah dan Madu Hutan .....	31
Tabel 4.3	Diameter Daya Hambat Ekstrak Metanol Sarang Lebah pada Inkubasi 24 jam .....	32
Tabel 4.4	Diameter Daya Hambat Ekstrak Metanol Sarang Lebah Pada Inkubasi 48 jam .....	32
Tabel 4.5	Diameter Daya Hambat Ekstrak Metanol Sarang Lebah Pada Inkubasi 72 jam .....	33
Tabel 4.6	Diameter Daya Hambat Ekstrak Etil Asetat Sarang Lebah Pada Inkubasi 24 jam .....	33
Tabel 4.7	Diameter Daya Hambat Ekstrak Etil Asetat Sarang Lebah Pada Inkubasi 48 jam .....	34
Tabel 4.8	Diameter Daya Hambat Ekstrak Etil Asetat Sarang Lebah Pada Inkubasi 72 jam .....	35
Tabel 4.9	Diameter Daya Hambat Ekstrak n-Heksan Sarang Lebah Pada Inkubasi 24 jam .....	35
Tabel 4.10	Diameter Daya Hambat Ekstrak n-Heksan Sarang Lebah Pada Inkubasi 48 jam .....	36
Tabel 4.11	Diameter Daya Hambat Ekstrak n-Heksan Sarang Lebah Pada Inkubasi 72 jam .....	36
Tabel 4.12	Diameter Daya Hambat Ekstrak Metanol Madu Hutan Pada Inkubasi 24 jam .....	37
Tabel 4.13	Diameter Daya Hambat Ekstrak Metanol Madu Hutan Pada Inkubasi 48 jam .....	38
Tabel 4.14	Diameter Daya Hambat Ekstrak Metanol Madu Hutan Pada Inkubasi 72 jam .....	38

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Skema Penelitian .....	61
Lampiran 2	Skema Prosedur Kerja .....	62
Lampiran 3	Analisis Data .....	67
Lampiran 4	Dokumentasi Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Sarang Lebah dan Madu Hutan .....	73



## ABSTRAK

**Nama : Ika Prestianti**

**NIM : 60500113065**

**Judul : Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Sarang Lebah dan Madu Hutan  
dari Kolaka terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*,  
*Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa***

---

Penyakit infeksi akibat bakteri merupakan masalah serius dalam kesehatan. Antibakteri alami yang dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri yaitu sarang lebah dan madu hutan yang mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin dan asam fenolat. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak sarang lebah dan madu hutan dari setiap pelarut yang digunakan dan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi ekstrak sarang lebah dan madu hutan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Pengujian antibakteri dilakukan dengan metode difusi kertas cakram dengan lama perendaman 1 jam kemudian diinkubasi selama 3 x 24 jam.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak metanol sarang lebah memiliki aktivitas tertinggi pada bakteri *E. coli* yaitu 3,8 mm pada konsentrasi 8%, ekstrak etil asetat sarang lebah pada bakteri *S. aureus* yaitu 3,72 mm pada konsentrasi 8%, ekstrak n-heksan sarang lebah pada bakteri *E. coli* yaitu 16,1 mm pada konsentrasi 8% dan ekstrak metanol madu hutan pada bakteri *E. coli* yaitu 2,9 mm pada konsentrasi 8%. Pengaruh konsentrasi ekstrak yaitu semakin tinggi konsentrasi maka semakin besar pula daya hambat ekstrak terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

**Kata Kunci :** Sarang Lebah, Madu Hutan, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*

## ABSTRACT

**Name : Ika Prestianti**

**NIM : 60500113065**

**Title : Antibacterial Activity Test Honey Bee Extraction and Honey Forest  
from Kolaka on Growth of Staphylococcus aureus Bacteria,  
Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa**

---

Bacterial infectious diseases are serious health problems. A natural antibacterial that can be used to inhibit bacterial growth of honeycomb (propolis, honey bag, egg bag and pollen bag) containing secondary metabolite compounds such as flavonoids, tannins and phenolic acids. The purpose of this research is to know the antibacterial activity of honeycomb extract from each solvent used and to know the effect of honeycomb extract concentration on the growth of Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa bacteria. Antibacterial testing was performed by the method of paper disc diffusion with soaking time 1 hour then incubated for 3 x 24 hours.

The results showed that antibacterial activity of methanol honeycomb extract had the highest activity in E. coli bacteria ie 3.8 mm at 8% concentration, ethyl acetate honey extract on S. aureus bacteria ie 3.72 mm at 8% concentration and n extract n-hexan honeycomb in E. coli bacteria that is 16,1 mm at 8% concentration. The effect of extract concentration is the higher the concentration the greater the inhibitory power of extract on the growth of Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa bacteria.

**Keywords :** Honeycomb, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### ***A. Latar Belakang***

Penyakit akibat infeksi bakteri merupakan masalah serius dalam kesehatan, selama beberapa tahun terakhir terjadi peningkatan timbulnya penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri (Dewi M, dkk., 2013: 33). Bakteri dapat menginfeksi jaringan atau alat tubuh lain yang menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda yang khas seperti pada bakteri *Staphylococcus aureus* penyebab infeksi kulit (Lauma, dkk., 2015: 10). Selain penyakit kulit, diare akut juga masih sering terjadi di masyarakat. Penyebab diare terbanyak kedua setelah virus adalah infeksi karena bakteri *Escherichia coli* yang merupakan bakteri patogen (Bakri, dkk., 2015: 185). *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan beberapa eksotoksin yang berperan penting dalam patogenisitas, bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ini menimbulkan infeksi pada luka dan luka bakar. Penyakit infeksi dapat diobati dengan menggunakan antibiotik (Sulistyaningsih, dkk., 2016: 3).

Antibiotik sampai saat ini masih menjadi obat andalan dalam menangani kasus-kasus penyakit infeksi yang disebabkan oleh berbagai jenis bakteri yang bersifat patogen terhadap manusia, namun penggunaan obat antibiotik secara tidak tepat dapat menimbulkan kerugian yang luas dari segi ekonomi dan kesehatan (Utami, 2012: 124). Hal ini dapat dihindari dengan memanfaatkan bahan alam sebagai obat tradisional. Penggunaan obat tradisional dinilai memiliki efek samping yang lebih kecil dibandingkan dengan obat yang berasal dari bahan kimia. Salah satu bahan alami yang dapat dimanfaatkan yaitu sarang lebah.

Sarang lebah dapat dijadikan sebagai sumber antibakteri, hal ini disebabkan karena adanya kandungan senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid pada sarang lebah yang berfungsi sebagai pelindung dan penentu kualitas madu. Senyawa yang terkandung dalam sarang lebah yang berpotensi sebagai antimikroba alami dapat digunakan sebagai bahan pengobatan alternatif alami disamping adanya jenis obat antibiotik komersial yang beredar dipasaran. Kandungan senyawa flavonoid, asam fenolat dan tanin yang terdapat dalam sarang lebah dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif seperti *Staphylococcus aureus* maupun bakteri gram negatif seperti *Escherichia coli* (Yuliana, dkk., 2015: 67-70).

Senyawa metabolit sekunder yang bersifat sebagai antibakteri tidak hanya diperoleh dari sarang lebah, bahkan madu hutan yang telah dikonsumsi oleh masyarakat mengandung senyawa metabolit sekunder karena madu memiliki manfaat dalam bidang kesehatan. Madu hutan merupakan salah satu jenis madu yang dapat dimanfaatkan secara langsung oleh masyarakat di sekitar hutan atau kawasan hutan yang dihasilkan oleh lebah liar yaitu jenis lebah yang belum dapat dibudidayakan, umumnya lebah tersebut hidup secara alami di hutan. Daerah Kolaka (Sulawesi Tenggara) memiliki hutan yang cukup luas sehingga masyarakat di daerah Kolaka masih memiliki kesadaran untuk tetap menjaga hutan dikarenakan adanya ketergantungan mereka dengan salah satu potensi hutan yang juga menjadi mata pencaharian mereka yaitu mencari madu hutan. Masyarakat meyakini bahwa madu memiliki khasiat untuk mengobati berbagai penyakit seperti penyakit yang disebabkan oleh infeksi. Secara ilmiah, madu terbukti memiliki kandungan senyawa organik seperti asam fenolat dan flavonoid yang bersifat antibakteri (Sholihah, 2013: 11). Fenol memiliki kemampuan untuk mendenaturasikan protein dan merusak membran sel, sedangkan flavonoid dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan



cara merusak dinding sel dari bakteri, dengan terganggunya dinding sel akan menyebabkan lisis pada sel (Sudrajat, dkk., 2012: 313-314). Penjelasan tersebut sesuai dengan firman Allah SWT. dalam Q.S An-Nahl/16: 68-69 yang menjelaskan bahwa lebah telah diwahyukan untuk membuat sarang dan madu yang dapat dijadikan sebagai obat bagi manusia. Firman Allah SWT. berikut:

وَأَوْحَىٰ رَبُّكَ إِلَى النَّحْلِ أَنِ اتَّخِذِي مِنَ الْجِبَالِ بُيُوتًا وَمِنَ الشَّجَرِ وَمِمَّا يَعْرِشُونَ ﴿٦٨﴾  
ثُمَّ كُلِي مِن كُلِّ الثَّمَرَاتِ فَاسْلُكِي سُبُلَ رَبِّكِ ذُلَالًا ۚ تَخْرُجُ مِنْ بُطُونِهَا شَرَابٌ مُّخْتَلِفٌ  
أَلْوَانُهُ فِيهِ شِفَاءٌ لِلنَّاسِ ۚ إِنَّ فِي ذَٰلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿٦٩﴾

Terjemahnya:

“Dan Tuhanmu mewahyukan kepada lebah: "Buatlah sarang-sarang di bukit-bukit, di pohon-pohon kayu, dan di tempat-tempat yang dibuat manusia", kemudian makanlah dari tiap-tiap (macam) buah-buahan dan tempuhlah jalan Tuhanmu yang telah dimudahkan (bagimu). Dari perut lebah itu keluar minuman (madu) yang bermacam-macam warnanya, di dalamnya terdapat obat yang menyembuhkan bagi manusia. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Tuhan) bagi orang-orang yang memikirkan” (Departemen Agama RI, 2002: 373).

Menurut Shihab dalam kitabnya yang berjudul tafsir al-misbah menjelaskan bahwa tafsiran ayat 68-69 dari surah di atas yaitu: Dengan perintah Allah SWT. kepada lebah yang mengantarnya memiliki naluri yang demikian mengagumkan, lebah dapat melakukan aneka kegiatan yang bermanfaat dengan sangat mudah bahkan bermanfaat bagi manusia. Manfaat itu antara lain adalah senantiasa keluar dari dalam perutnya setelah mengisap sari kembang-kembang, sejenis minuman yang sungguh lezat yaitu madu yang bermacam-macam warnanya sesuai dengan waktu dan jenis sari kembang yang diisapnya. Di dalamnya, yakni pada madu itu terdapat obat penyembuhan bagi manusia (Shihab, 2002: 645).

Ayat di atas menjelaskan bahwa Allah SWT. menerangkan secara jelas bagaimana lebah diperintahkan untuk membuat sarang dengan mengambil makanan berupa nektar dari berbagai jenis tumbuhan, dari perut lebah keluar minuman berupa madu yang dapat dijadikan sebagai obat penyembuh bagi manusia. Pada ayat tersebut juga tidak dikatakan obat untuk spesifik penyakit tertentu dan madu diyakini memiliki khasiat dalam penyembuhan penyakit yang disebabkan oleh bakteri karena di dalam madu terdapat kandungan senyawa yang berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri sehingga dapat dijadikan salah satu alternatif pengobatan alami sebagai antibakteri. Sebagaimana dalam hadis yang diriwayatkan oleh Ibnu Majah dari Abdullah bin Mas'ud, bahwa Rasulullah saw. bersabda:

عَلَيْكُمْ بِالشَّفَاءِ مِنَ الْعَسَلِ وَالْقُرْآنِ

Artinya:

“Gunakanlah dua obat penyembuh; madu dan al-Quran. Allah berfirman bahwa dalam kehidupan lebah, binatang yang lemah lembut itu, betapa Allah telah mengilhamkan kepadanya cara membangun sarangnya, mencari makannya kemudian menghasilkan madu yang sangat bermanfaat bagi kesehatan manusia, terdapat tanda kebesaran Allah penciptanya dan pencipta seru sekalian alam” (Bahreisy dan Bahreisy, 1988: 577).

Aktivitas antibakteri diukur secara *in vitro* untuk menentukan potensinya dalam suatu sediaan, konsentrasinya dalam cairan tubuh, dan jaringan serta kepekaan bakteri terhadap obat (Nadhilla, 2014: 97). Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan dilakukan dengan mengukur diameter zona bening yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak (Kusumawati, 2016: 27). Menurut penelitian Sholihah (2013: 16-17) tentang pengujian aktivitas antibakteri dengan metode sumur menunjukkan madu hutan Indonesia positif memiliki aktivitas antibakteri. Madu hutan KB1 aktivitas antibakterinya lemah pada konsentrasi 25% dan aktivitasnya

mulai sedang pada konsentrasi 50% terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan madu hutan SM1 dan SB1 memiliki aktivitas antibakteri klasifikasi sedang terhadap bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 25% serta aktivitas semua jenis madu lemah terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 25% sampai 50%.

Menurut penelitian Wachidah (2016: 11), bahwa madu lebah hutan dengan perlakuan larutan pada konsentrasi 15%, 30%, 60% dan 90% terjadi peningkatan rata-rata zona hambat. Terjadinya rata-rata peningkatan zona hambat dikarenakan kandungan dari madu lebah hutan yaitu fenol seperti tanin dan flavonoid serta hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) menghasilkan efek terapi antibakteri.

Menurut penelitian Naqvi, dkk. (2013: 251) menyatakan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak sarang lebah madu diencerkan pada konsentrasi 30% telah diuji terhadap dua strain bakteri yaitu gram-positif (*Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*) dan satu gram negatif (*Escherichia coli*). Ekstrak metanol ditemukan dengan efek antimikroba terbaik terhadap *Staphylococcus aureus* dengan zona hambatnya 1,15 mm.

Berdasarkan latar belakang maka perlu dilakukan penelitian ini karena penelusuran pustaka tentang pengujian aktivitas antibakteri sarang lebah dan madu hutan masih terbatas. Sehingga mendorong peneliti untuk melakukan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas daya hambat dari ekstrak madu hutan dan sarang lebah dari kolaka terhadap pertumbuhan bakteri yang bersifat patogen.

## **B. Rumusan Masalah**

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak sarang lebah dan madu hutan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*?

2. Bagaimana pengaruh konsentrasi ekstrak sarang lebah dan madu hutan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*?

### **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak sarang lebah dan madu hutan dari setiap pelarut yang digunakan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi ekstrak sarang lebah dan madu hutan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

### **D. Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memberikan informasi kepada masyarakat bahwa selain madu yang memiliki manfaat yang besar terhadap kesehatan, sarang lebah juga memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri.
2. Sebagai acuan untuk menambah ilmu pengetahuan dan rujukan referensi untuk penelitian selanjutnya.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### ***A. Tinjauan Umum Sarang Lebah***

Sarang lebah adalah tempat perlindungan bagi koloni lebah dari serangan bakteri, jamur, virus maupun predator, serta sebagai tempat produksi madu, *bee pollen* dan tempat tumbuh kembang telur lebah. Kondisi dari sarang lebah sangat mempengaruhi kualitas madu yang dihasilkan, penurunan kualitas madu yang bahkan tidak layak untuk dikonsumsi disebabkan oleh keberadaan bakteri tertentu dan didominasi oleh *Bacillus sp* pada sarang lebah (Yuliana, dkk., 2015: 67).

Sarang lebah memiliki bentuk segienam dengan susunan yang rapi, dibuat tidak hanya dari satu titik yang menunjukkan kesempurnaan penciptaan yang luar biasa jika dibandingkan dengan kemampuan buatan manusia. Bentuk segienam adalah bentuk yang dapat menutup permukaan dengan baik begitupun dengan segitiga sama sisi maupun persegi, bentuk segienam tersebut memungkinkan lebah mendapatkan ruang lebih banyak untuk penyimpanan madu dibandingkan dengan bentuk lain seperti bentuk segitiga, persegi, dan lain-lain (Priyanto, 2009: 22).

Kandungan senyawa pada sarang lebah madu berfungsi sebagai pelindung dan penentu kualitas madu antara lain flavonoid yang merupakan senyawa fenol alami dan *bees wax*. Berdasarkan kandungan senyawa tersebut, bagian sarang lebah madu *Trigona spp* telah diteliti dan digunakan sebagai antibakteri *Streptococcus mutans*. Bagian sarang lebah madu *Trigona spp* yang berpotensi sebagai antimikrobia tidak hanya terdapat pada bagian penutup sarang atau propolis, melainkan terdapat pula pada bagian kantong polen, kantong madu, dan kantong

telur. Bagian dari sarang lebah madu memiliki komponen senyawa yang berbeda sebagai agen antimikrobia (Yuliana, dkk., 2015: 67).

Lebah juga menghasilkan produk lain yang terdapat pada sarangnya seperti propolis, pollen dan sel anakan. Propolis atau lem lebah merupakan suatu bahan resin yang dikumpulkan oleh lebah madu dari berbagai macam jenis tumbuhan. Terutama dari bagian kuncup dan daun tumbuhan tersebut, lebah kemudian mencampur bahan resin ini dengan enzim yang disekresikan dari kelenjar mandibula lebah. Propolis dikumpulkan lebah pekerja untuk digunakan sebagai penutup sarang, mengurangi ukuran pintu masuk sarang, menempel lubang-lubang kecil untuk perlindungan terhadap musuh alami, memperkuat perlekatan sarang, melindungi keluarga lebah terhadap bakteri dan virus. Propolis berwarna kuning sampai coklat kemerahan dan memiliki bau aromatik. Selain itu, propolis digunakan untuk mengisi celah dan retakan serta menghaluskan permukaan yang kasar pada sarang lebah madu. Secara kimia, propolis sangat kompleks dan kaya akan senyawa terpena, asam benzoat, asam kafeat, asam sinamat dan asam fenolat (Banowu, 2016: 17-18).

Pollen atau tepung sari bunga merupakan alat reproduksi jantan pada tumbuhan. Bagi lebah, polen berfungsi sebagai bahan pembentuk, pertumbuhan dan penggantian sel yang rusak. Jika berlebihan, pollen disimpan dalam sarang dan digunakan saat pollen langka di lapangan. Pollen sangat penting sebagai sumber gizi utama lebah madu, selain air dan karbohidrat. Secara garis besar, polen sebagai sumber protein dan nektar sebagai sumber protein karbohidrat bagi lebah. Sel anakan (*bee brood*) adalah larva lebah berwarna putih, terletak dalam sel sarang yang merupakan tahap perkembangan sejak telur menetas sampai menjadi kepompong. Komposisi kimia dari sel anakan yang segar yaitu 77% air, 3,17% lemak, 0,41%

glikogen dan 14,84% abu. Selain itu, mengandung 16 jenis asam amino dan 6 jenis vitamin serta banyak jenis enzim dan hormon (Banowu, 2016: 18-19).

## **B. Tinjauan Umum Madu Hutan**

*Apis dorsata* biasa disebut lebah hutan atau lebah liar, lebah ini sulit untuk ditenakkan karena sifatnya yang ganas dan sengatannya juga cukup berbahaya bagi manusia. Jenis lebah ini banyak terdapat di hutan belantara yang jarang ditempuh oleh manusia. Jenis lebah ini juga ada yang menamakannya lebah raksasa, karena rumahnya sangat besar dan penghuninya jutaan ekor. Produksi madunya setiap kali panen sekitar 50-60 kilogram (Hamzah, 2011: 19). Untuk memperoleh madu dari lebah hutan biasanya dilakukan dengan perburuan, peralatan yang biasanya digunakan dalam kegiatan pemungutan madu lebah hutan adalah alat-alat untuk mencapai sarang lebah di atas pohon, tali, ember tempat penampungan sarang dan madu, pisau, pengasap, jerigen dan alat saringan madu (Shagir 1998, dalam Hutagalung, 2008: 19).

Madu adalah larutan gula yang dihasilkan oleh lebah (genus *Apis*). Lebah mengumpulkan cairan dari sari bunga yang disebut nektar dan di bawa ke sarang lebah, di dalam sarang tersebut lebah menambahkan enzim ke nektar dan menyimpannya dalam sarang yang berbentuk segienam (Elliza, 2010: 6). Aristoteles (384-322 SM) menyebutkan penggunaan madu untuk mengobati sakit mata dan luka. Madu telah dilaporkan efektif melawan berbagai jenis luka seperti luka bakar, goresan, bisul, amputasi dan diabetes (Boateng dan Diunase, 2015: 2).

Madu memiliki kandungan gula dan air, kadar gula dalam madu mencapai 95-99% terdiri dari fruktosa (38,2%), glukosa (31,3%) dan jenis gula lain seperti maltosa, sukrosa, isomaltosa dan beberapa oligosakarida dalam jumlah sedikit. Air

merupakan komponen kedua terpenting dalam madu yang mempengaruhi proses penyimpanannya. Mineral seperti potasium, kalsium, tembaga, besi, mangan dan fosfor dengan jumlah yang sedikit. Enzim-enzim utama yang terdapat dalam madu antara lain amilase dan glukosa oksidase serta asam fenolik dan flavonoid yang berperan sebagai antibakteri (Nadhilla, 2014: 95). Aktivitas antimikroba dari madu berkaitan dengan kandungan hidrogen peroksida dan senyawa fenolik, meskipun hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh komponen ini atau komponen lainnya sangat bervariasi bergantung dari sumber nektar bunga. Secara umum, warna madu yang lebih gelap memiliki daya hambat yang lebih tinggi dibandingkan madu yang berwarna terang (Fitrianingsih, dkk., 2014: 36).

Menurut Wardhana (2014: 8), beberapa penelitian menyebutkan khasiat atau manfaat dari madu yaitu: (1) Mempercepat proses penyembuhan luka bakar, jika madu dioleskan pada kulit yang mengalami luka bakar maka madu akan mengurangi rasa sakit dan mencegah pembentukan lepuhan. (2) Mengatasi masalah insomnia, dokter asal Inggris berpendapat bahwa madu memiliki kandungan zat yang berfungsi untuk mengurangi rasa stres dan memiliki zat tidur. Dokter asal Rusia berpendapat bahwa dengan mengonsumsi satu sendok madu di pagi hari akan mempermudah proses tidur pada malam hari, namun bagi penderita insomnia berat dianjurkan mengonsumsi dua sendok madu sebelum tidur. (3) Baik untuk pencernaan, madu memiliki molekul gula yang mudah diubah menjadi fruktosa dan glukosa sehingga pada pencernaan yang sensitif dapat pula mencerna madu dengan mudah. (4) Madu *sidr* telah digunakan dalam aplikasi medis yaitu terapi penyakit hati, infeksi respirasi, penyakit mata dan terapi bedah. Madu ini memiliki antioksidan kuat dan antibakteri. (5) Memperkuat kinerja otot jantung, Ibnu Sina menyebutkan bahwa dengan mengonsumsi madu dan buah delima dapat memberikan energi dan vitalitas untuk



memperkuat otot jantung berdasarkan ensiklopedia medis. (6) Madu dapat meredakan batuk maupun menghilangkan dahak dan untuk terapi kolitis. (7) Madu sebagai antioksidan, kandungan dalam madu memiliki komposisi vitamin C, enzim, fenol, flavonoid dan asam organik. (8) Memiliki potensi mengurangi patogen pada makanan dan mencegah penyakit infeksi. (9) Madu sebagai obat alternatif kecantikan, madu dapat dijadikan sebagai masker wajah dengan manfaat membuat kulit halus, kuat, lembut, segar dan mencegah proses penuaan.

### ***C. Ekstraksi***

Ekstraksi adalah proses pemisahan yang didasarkan pada perpindahan massa komponen kimia yang terdapat dalam sampel bahan alam ke dalam pelarut. Tujuan utama dari metode ekstraksi ini didasarkan pada distribusi zat terlarut ke dalam pelarutnya (Ilyas, 2013: 22). Ekstraksi merupakan salah satu langkah dimana suatu senyawa dipisahkan dari matriks ke dalam fase yang berbeda dan tujuan utama dari tahap ini adalah agar sampel dapat dimasukkan ke dalam instrumen analisis (Haeria, 2014 : 16).

Teknik pemisahan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam suatu bahan alam merupakan isolasi yang mana pada isolasi senyawa bahan alam terdiri dari beberapa tahapan yang dimulai dari ekstraksi. Hasil ekstraksi ini disebut dengan ekstrak, beberapa metode ekstraksi senyawa organik bahan alam yang umum digunakan antara lain maserasi, perkolasi, soxhletasi dan lain-lain. Namun, metode ekstraksi bahan alam yang paling sederhana adalah metode maserasi (Ilyas, 2013: 2).

Menurut Rahmadani (2015: 8), beberapa cara metode ekstraksi menggunakan pelarut yaitu sebagai berikut:

1. Cara dingin

- a. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang terus menerus. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya. Metode ini dapat menghasilkan ekstrak dalam jumlah banyak, serta terhindar dari perubahan kimia senyawa-senyawa tertentu karena pemanasan (Inayatullah, 2012: 6). Maserasi memiliki keuntungan yaitu cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan kekurangannya adalah waktu pengerjaan yang lama dan ekstraksi kurang sempurna serta banyak menggunakan pelarut (Puzi H, dkk., 2015: 55).

- b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai terjadi penyarian sempurna yang umumnya dilakukan pada suhu ruang. Proses perkolasi terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap perendaman, tahap perkolasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penampungan ekstrak) secara terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat).

2. Cara panas

- a. Sokletasi

Sokletasi merupakan ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru dengan menggunakan alat soklet sehingga terjadi ekstraksi kontinyu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

b. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

c. Infusa

Infusa adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur 90°C selama 15 menit. Bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur yang digunakan 96-98°C selama waktu tertentu (15-20 menit).

d. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air. Dekok merupakan ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur 90°C selama 30 menit, metode ini digunakan untuk ekstraksi konstituen yang larut dalam air dan stabil terhadap panas.

e. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik pada temperatur lebih tinggi dari temperatur suhu kamar, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C. Digesti merupakan maserasi dengan pengadukan kontinyu pada temperatur lebih tinggi dari temperatur ruang.

#### **D. Metabolit Sekunder**

Metabolit sekunder adalah molekul organik yang tidak terlibat secara langsung dalam pertumbuhan dan perkembangan normal dari suatu organisme, ketiadaan kandungan metabolit sekunder tidak mengakibatkan kematian langsung melainkan dalam penurunan jangka panjang bertahan hidup organisme sehingga dianggap ikut berperan dalam mekanisme pertahanan tubuhnya. Fungsi utama dari

senyawa metabolit sekunder yaitu perlindungan terhadap serangan mikroba (fitoaleksin), perlindungan terhadap serangan atau gangguan herbivora, perlindungan terhadap gangguan lingkungan dan agen alelopati yaitu menghambat pertumbuhan tanaman di sekitarnya (fungsi kompetisi). Metabolit sekunder sering ditemukan dalam bentuk yang bermacam-macam dan berbeda antara yang satu dengan yang lainnya, sesuai dengan jenis tanaman tersebut (Ilyas, 2013: 4-5)

Fungsi dari metabolit sekunder tersebut sesuai dengan firman Allah swt dalam QS Asy-Syu'araa'/26: 78-80 berikut:

الَّذِي خَلَقَنِي فَهُوَ يَهْدِينِ (٧٨) وَالَّذِي هُوَ يُطْعِمُنِي وَيَسْقِينِ (٧٩) وَإِذَا مَرِضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ (٨٠)

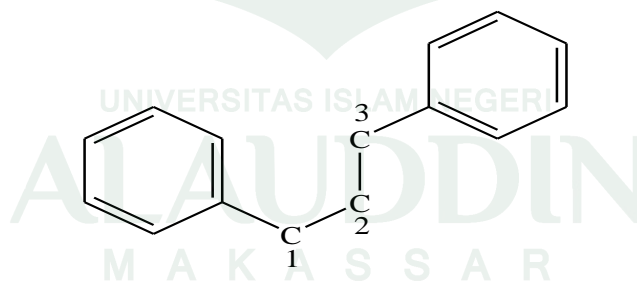
Terjemahnya:

“(yaitu Tuhan) yang telah menciptakan aku, maka Dia yang memberi petunjuk kepadaku, dan Yang memberi makan dan minum kepadaku, dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkan aku” (Departemen Agama RI, 2002: 519).

Menurut Shihab dalam kitabnya yang berjudul Tafsir Al-Misbah menjelaskan bahwa tafsiran ayat 78-80 dari surah di atas yaitu: ayat-ayat diatas menyatakan bahwa Tuhan semesta alam itu adalah Dia Yang telah menciptakan aku dengan kadar dan ukuran yang sangat tepat agar aku menjalankan fungsi dengan baik, maka hanya Dia pula Yang menunjuki aku aneka petunjuk yang kuperlukan sepanjang hidupku. Dan Yang hanya Dia Yang Maha Esa itu yang memberi aku makan dan memberi aku minum, sehingga tanpa bantuan-Nya pastilah aku binasa. Dan di samping itu, apabila aku memakan atau meminum sesuatu yang mestinya kuhindari atau melakukan kegiatan yang menjadikan aku sakit, maka hanya Dia pula Yang menyembuhkan aku sehingga kesehatanku kembali pulih (Shihab, 2002: 66).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah telah menciptakan manusia dengan memberikan berbagai petunjuk dan Allah memberikan kesembuhan dengan berbagai macam cara baik itu melalui perantara manusia maupun obat dari berbagai jenis tanaman herbal, seperti halnya pada madu dan sarang lebah yang dapat dikonsumsi manusia bahkan diyakini pula manfaatnya dalam bidang kesehatan untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit karena pada madu dan sarang lebah terdapat kandungan senyawa metabolit sekunder yang memiliki sifat antibakteri.

Senyawa flavonoid adalah senyawa turunan polifenol yang mempunyai 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi  $C_6-C_3-C_6$  yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga atom karbon yang merupakan rantai alifatik. Flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil atau gula. Gugus gula yang terikat pada beberapa jenis struktur flavonoid (diistilahkan glikosida flavonoid) cenderung menyebabkan flavonoid tersebut mudah larut dalam air (Ilyas, 2013: 74).



Gambar 2.1 Struktur dasar flavonoid

(Sumber: Ilyas, 2013:73)

Menurut Wardhana (2014: 10), beberapa mekanisme flavonoid sebagai agen antimikroba yaitu sebagai berikut:

a. Menghambat fungsi membran sel

*Sophoraflavanone G* memberikan dampak pada membran sel bakteri, jenis flavonoid ini mengganggu tingkat kestabilan lapisan membran bagian dalam dan

luar. Hal ini terjadi akibat dari flavonoid menyerang daerah membran sel yang bersifat hidrofobik maupun hidrofilik. Tanin dapat menginduksi terjadinya kebocoran pada ruang intraliposomal sehingga molekul-molekul kecil dapat memasuki ruang tersebut. *Cathechins* dapat menyebabkan fusi pada membran luar dan dalam sehingga terjadi kebocoran dan agregasi dari material. Semua mekanisme tersebut pada akhirnya dapat meningkatkan permeabilitas sel sehingga sel akan lisis.

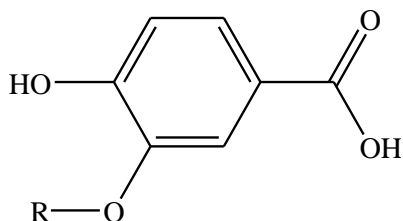
b. Menghambat metabolisme energi

*Licochalcone A* dapat menghambat penggabungan prekursor radioaktif menjadi makromolekul (DNA, RNA dan protein), menghambat konsumsi oksigen, menghambat aktivitas NADH-sitokrom c reduktase sehingga pembentukan energi yang seharusnya dibutuhkan tidak dapat terbentuk akhirnya menyebabkan kematian sel.

c. Menghambat sintesis asam nukleat

Hal ini terjadi karena cincin B pada flavonoid dapat berikatan dengan unsur hidrogen pada penghubung antara basa purin (guanin dan adenin) dengan basa pirimidin (sitosin dan timin) sehingga enzim helikase yang berfungsi sebagai pemutus ikatan ganda DNA tidak dapat mengenalinya dan tidak dapat berfungsi sehingga sintesis asam nukleat tidak dapat terjadi.

Senyawa fenolik diistilahkan sebagai kelompok senyawa bahan alam yang memiliki ciri utama yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau lebih substituen hidroksil. Berdasarkan strukturnya, senyawa fenolik bersifat polar sehingga cenderung mudah larut dalam air. Kelompok utama dari golongan senyawa ini antara lain fenol sederhana, fenil propanoid, poliketida dan flavonoid serta stilben. Senyawa fenolik sudah banyak diisolasi dari tumbuhan obat dan bahan alam lain yang bermanfaat (Ilyas, 2013: 63-64).



Gambar 2.2 Struktur kerangka asam fenolat

(Sumber: Tsao, 2010: 1232)

Tanin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder pada tanaman, tanin adalah senyawa polimer fenolat yang dapat ditemukan pada semua tanaman vaskular yang diturunkan dari jalur asam sikimat dimana unit monomernya yaitu fenol. Tanin pada tanaman memiliki fungsi sebagai mekanisme pertahanan bagi tanaman untuk menghindarkan diri dari serangan serangga. Tanin mempunyai minimum berat molekul 500 gr/mol dan larut di dalam air, mempunyai kemampuan untuk mengikat protein dan juga menimbulkan rasa tidak enak bagi hewan ternak atau manusia yang mengkonsumsinya (Sundari, 2010: 12). Tanin memiliki aktifitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adhesin sel mikroba juga menginaktifkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel (Ngajow, dkk., 2013: 131).

### **E. Bakteri**

Nama bakteri berasal dari bahasa Yunani “*bakterion*” yang berarti tongkat atau batang. Bakteri adalah mikroorganisme yang bersel satu dan berkembang biak dengan membelah diri (aseksual), ukuran bakteri bervariasi baik penampang maupun panjangnya. Bakteri dibagi dalam golongan gram positif dan gram negatif berdasarkan reaksinya terhadap pewarnaan gram, perbedaan keduanya diperlihatkan dari dinding selnya. Dinding sel bakteri gram positif sebagian besar terdiri atas

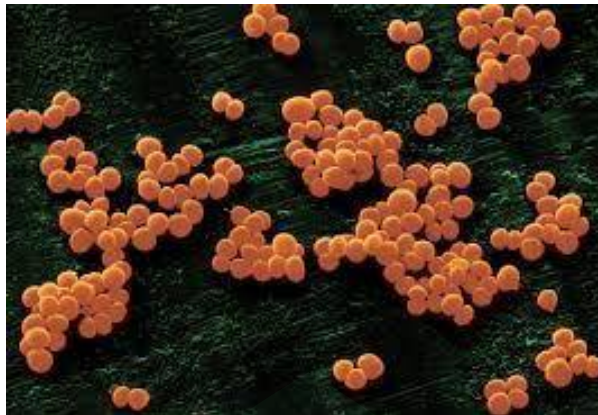
beberapa lapisan peptidoglikan yang membentuk struktur yang tebal dan kaku. Dinding sel bakteri gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis, membran luar yang terdiri dari protein, lipoprotein, fosfolipid, lipopolisakarida dan membran dalam. Selain itu, dinding sel bakteri gram negatif mengandung polisakarida dan lebih rentan terhadap kerusakan mekanik dan kimia (Rahmadani, 2015: 12).

Bakteri memiliki empat fase pertumbuhan yang dimulai dari fase penyesuaian diri, fase ini merupakan penyesuaian bakteri ke suatu lingkungan baru, pada fase ini tidak ada kenaikan jumlah sel melainkan peningkatan ukuran atau besar sel. Fase kedua adalah fase logaritmik, selama fase ini jumlah sel meningkat dari 1 menjadi 2, 2 menjadi 4, 4 menjadi 8 dan seterusnya. Fase ketiga yaitu fase stasioner, dalam fase ini kecepatan tumbuh sama dengan kecepatan mati sehingga jumlah sel akan konstan. Fase keempat yaitu fase kematian, pada fase ini terjadi akumulasi bahan toksik dan zat hara yang diperlukan oleh mikroorganisme juga berkurang sehingga bakteri akan memasuki fase kematian (Winarwi, 2006: 18-19).

#### 1. *Staphylococcus Aureus*

*Staphylococcus aureus* adalah bakteri yang berbentuk bulat atau lonjong, tidak berspora, bakteri gram positif dan tersusun dalam kelompok (seperti buah anggur). Pembentukan kelompok ini karena pembelahan sel-sel anaknya cenderung tetap berada di dekat sel induknya. Bakteri ini tumbuh paling cepat pada suhu 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25°C), *Staphylococcus aureus* membentuk koloni berwarna abu-abu sampai kuning emas tua (Alam, 2015: 18-19).





Gambar 2.3 Bakteri *Staphylococcus aureus*

(Sumber: Alam, 2015: 18)

Menurut Alam (2015: 18), *Staphylococcus aureus* diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Procaryota
Divisi	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Familiyi	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

Bakteri *Staphylococcus aureus* mudah tumbuh dalam berbagai perbenihan dan mempunyai metabolisme aktif serta menghasilkan pigmen yang bervariasi dari warna putih sampai kuning tua. Bakteri ini dapat masuk dalam kulit melalui folikel-folikel rambut dan luka-luka kecil. Infeksi yang ditimbulkan oleh *Staphylococcus aureus* ditandai dengan kerusakan jaringan yang disertai abses bernanah. Beberapa penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri ini adalah impetigo, bisul, jerawat, infeksi luka, sindrom syok toksik, dan jenis-jenis patogenik lainnya (Fadhmi, dkk., 2015: 10).

Ciri khas penyebab dari bakteri *Staphylococcus aureus* salah satunya berupa radang supuratif (bernanah) pada jaringan lokal dan cenderung menimbulkan abses, manifestasi klinis yang paling sering ditemukan yaitu furunkel yang terdapat pada kulit dan impetigo pada anak-anak. Bakteri ini dikenal paling sering mengkontaminasi luka pasca bedah sehingga menimbulkan komplikasi dan jika terjadi bakteriemia maka infeksi dapat bermetastasis ke berbagai organ. Patogenesis infeksi *Staphylococcus aureus* adalah hasil interaksi berbagai protein permukaan bakteri dengan berbagai reseptor pada permukaan sel inang (Deleo, dkk., 2009, dalam Nurzakiyah, 2016: 18).

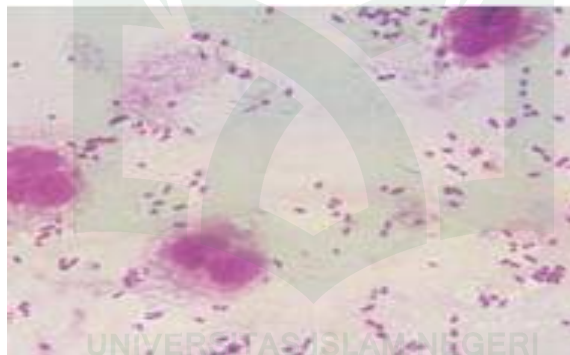
## 2. *Escherichia Coli*

Bakteri *Escherichia coli* adalah bakteri yang bersifat gram negatif, berbentuk batang dan tidak memiliki spora. Bakteri ini dapat hidup pada suhu optimum 37°C serta memiliki kemampuan untuk memfermentasi karbohidrat dan menghasilkan gas. Kondisi optimum untuk bakteri ini tumbuh pada temperatur antara 45-114°F, pH antara 6-8, tetapi ada beberapa jenis bakteri ini yang dapat hidup pada pH di bawah 4,3 maupun pH antara 9-10 (Wardhana, 2014: 15).

Menurut Rahmadani (2015: 14), bakteri *Escherichia coli* dikalsifikasikan sebagai berikut:

Devisi	: Bacteria
Kelas	: Schizomycetes
Bangsa	: Enterobacteriales
Suku	: Enterobacteriaceae
Marga	: Escherichia
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

Ditemukan dalam usus besar manusia dan tidak menimbulkan penyakit terhadap inang pada keadaan normal, tetapi pada keadaan tertentu dimana terjadi perubahan terhadap inang seperti sistem imun yang menurun, bakteri ini mampu menimbulkan penyakit pada manusia (Wardhana, 2014: 15). *Escherichia coli* memiliki sifat patogen yang dapat menyebabkan beberapa penyakit pada manusia, antara lain menyebabkan infeksi primer pada usus manusia (diare pada anak) dan infeksi pada saluran kemih (Rahmadani, 2015: 13). Mekanisme *E.coli* dapat menyebabkan diare diawali dengan menempelnya organisme pada glikoprotein atau reseptor glikolipid kemudian diikuti dengan produksi substansi berbahaya yang dapat merusak dan mengganggu fungsi dari sel usus (Wardhana, 2014: 21).



Gambar 2.4 Bakteri *Escherichia coli*

(Sumber: Wardhana, 2014: 15)

### 3. *Pseudomonas Aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa* berbentuk batang dengan ukuran sekitar  $0,6 \times 2 \mu\text{m}$ , bakteri ini terlihat sebagai bakteri tunggal, berpasangan dan terkadang membentuk rantai yang pendek. *Pseudomonas aeruginosa* termasuk bakteri gram negatif dan mudah tumbuh pada berbagai media pembiakan karena kebutuhan nutrisinya sangat sederhana. Bakteri ini dijumpai pada luka bakar, infeksi telinga serta luka-luka setelah operasi (Rahmadani, 2015: 14).

Menurut Rahmadani (2015: 15), klasifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah sebagai berikut:

Divisi	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Marga	: Pseudomonadales
Suku	: Pseudomonadaceae
Genus	: Pseudomonas
Species	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

#### **F. Antibakteri**

Zat antibakteri adalah zat yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri sehingga dapat digunakan untuk mencegah atau mengatasi infeksi bakteri. Zat ini dapat berupa metabolit sekunder dari mikroba tertentu (antibiotika), diisolasi dari tumbuhan atau hewan dan hasil sintesis kimia (Sulistyaningsih, dkk., 2016: 3). Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi daya antibakteri suatu bahan adalah konsentrasi bahan, jumlah dan jenis bakteri yang diuji. Ketentuan antibakteri yaitu daerah hambatan 20 mm atau lebih berarti sangat kuat, daerah hambatan 10 sampai 20 mm berarti kuat, 5 sampai 10 mm berarti sedang dan daerah hambatan 5 mm atau kurang berarti lemah (Davis dan Stout, 1971, dalam Ngajow, dkk., 2013: 132).

Menurut Rahmadani (2015: 15), mekanisme kerja antibakteri ada lima yaitu: (1) Menghambat sintesis dinding sel, struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubah dinding sel setelah terbentuk. (2) Mengganggu keutuhan membran sel mikroba, membran sitoplasma mempertahankan

bahan-bahan tertentu yang ada di dalam sel serta mengatur aliran keluar masuknya bahan-bahan lain. Membran memelihara integritas komponen-komponen selular, kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel. (3) Menghambat sintesis protein sel mikroba, hidupnya suatu sel bergantung dengan terjaganya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alaminya. Suatu kondisi yang mengubah keadaan ini dengan mendenaturasi protein dan asam-asam nukleat dapat merusak sel tanpa dapat diperbaiki kembali, suhu tinggi dan konsentrasi pekat beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi (denaturasi) irreversible. (4) Mengganggu metabolisme sel mikroba, setiap enzim dari banyaknya enzim ada yang di dalam sel merupakan sasaran potensial bagi bekerjanya suatu penghambat. Banyaknya zat kimia telah diketahui dapat mengganggu reaksi biokimia, penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel. (5) Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein, dalam kehidupan normal sel DNA, RNA dan protein memiliki peranan penting sehingga gangguan apapun yang akan terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel.

Pengujian mikrobiologi memanfaatkan mikroorganisme sebagai penentu konsentrasi komponen tertentu pada campuran kompleks kimia, untuk mendiagnosis penyakit tertentu serta untuk menguji bahan kimia guna menentukan potensi mutagenic atau karsinogenik suatu bahan. Pada uji ini diukur pertumbuhan mikroorganisme terhadap agen antimikroba, kegunaan uji antimikroba adalah diperolehnya suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien (Rahmadani, 2015: 16).

Terdapat dua jenis metode yang umum digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri yaitu metode dilusi dan difusi, metode dilusi menggunakan konsentrasi

antimikroba yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat. Kemudian media diinokulasi bakteri uji dan dieramkan. Tahap akhir dilarutkan antimikroba dengan kadar yang menghambat atau mematikan. Uji kepekaan cara dilusi agar membutuhkan waktu dan penggunaannya dibatasi pada keadaan tertentu saja. Uji kepekaan cara dilusi cair dengan menggunakan tabung reaksi tidak praktis dan jarang dipakai sedangkan metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar. Kertas cakram berisi sejumlah obat tertentu ditempatkan pada permukaan medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah inkubasi, diameter zona hambatan sekitar cakram dipergunakan mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji. Metode difusi ini dipengaruhi oleh beberapa faktor fisik dan kimia, selain faktor antara obat dan organisme (misalnya sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran molekuler dan stabilitas obat). Meskipun demikian, standarisasi faktor-faktor tersebut memungkinkan melakukan uji kepekaan yang baik (Zulhawa, 2010: 22-23).

### **BAB III**

#### **METODELOGI PENELITIAN**

##### ***A. Waktu dan Tempat Penelitian***

Penelitian dimulai pada bulan Januari sampai Maret 2017 di Laboratorium Biokimia, Laboratorium Kimia Organik Fakultas Sains dan Teknologi, Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar dan Laboratorium Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.

##### ***B. Alat dan Bahan Penelitian***

###### **1. Alat**

Alat yang digunakan adalah laminar air flow (*ESCO*), autoklaf (*Astell*), *vacum rotary evaporator* (*Heidolph*), oven (*Memmert*), inkubator (*Heraeus*), neraca analitik (*Kern*), mikro pipet (*Biorad*), erlenmeyer 250 mL, gelas kimia 250 mL, 100 mL dan 50 mL, corong steril, labu alas bulat, spatula, cawan petri, jangka sorong, pipet volume 25 mL, tabung reaksi, pipet tetes, batang pengaduk, jarum ose, pinset, wadah maserat dan wadah ekstrak.

###### **2. Bahan**

Bahan yang digunakan adalah aluminium foil, asam sulfat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) p.a, aquadest ( $\text{H}_2\text{O}$ ), besi (III) klorida ( $\text{FeCl}_3$ ) 5% dan 1%, dimetilsulfoksida (DMSO), etil asetat ( $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ ), kertas cakram, kloramfenikol, isolat *Escherichia coli*, isolat *Pseudomonas aeruginosa*, isolat *Staphylococcus aureus*, metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ), natrium klorida ( $\text{NaCl}$ ) 0,9%, n-heksan ( $\text{C}_6\text{H}_{14}$ ), *nutrient agar* (NA) serta sampel madu dan sarang lebah dari Kolaka.

### **C. Prosedur Kerja**

#### **1. Ekstraksi Sampel**

##### **a. Ekstraksi Sarang Lebah**

Ekstraksi sarang lebah dilakukan dengan metode maserasi, sarang lebah dipotong-potong dan ditimbang masing-masing sebanyak 100 gram kemudian dimasukkan ke dalam 3 toples yang berbeda lalu ditambahkan dengan pelarut metanol pada wadah I, etil asetat pada wadah II dan n-heksan pada wadah III sampai sampel terendam kemudian ditutup dengan erat. Campuran sarang lebah yang sudah didiamkan selama 24 jam disaring dengan penyaring dan corong steril. Sisa ampas hasil saringan sarang lebah dimaserasi kembali selama 3 hari dan filtrat hasil maserasi di uapkan dengan menggunakan evaporator pada suhu 45-50°C hingga terbentuk ekstrak kental (Yuliana, dkk., 2015: 68).

##### **b. Ekstraksi Madu Hutan**

Madu diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi, sebanyak 150 mL sampel madu hutan dimasukkan ke dalam toples lalu ditambahkan dengan dengan pelarut metanol sampai sampel madu terendam. Selanjutnya ditutup dengan erat dan direndam selama 24 jam. Setelah itu, filtrat disaring dan di uapkan dengan menggunakan evaporator pada suhu 45-50°C hingga terbentuk ekstrak kental (Asih, dkk., 2012: 73).

#### **2. Skrining Fitokimia**

##### **a. Uji Kandungan Flavonoid**

Ekstrak dipipet lalu ditetaskan ke dalam plat tetes sebanyak 3 tetes kemudian ditambahkan dengan asam sulfat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) p.a sebanyak 1 tetes. Sampel positif



mengandung flavonoid jika larutan mengalami perubahan warna yang sangat mencolok menjadi warna kuning, merah atau coklat (Munte, dkk., 2015: 43).

b. Uji Kandungan Fenolik

Ekstrak dipipet lalu ditetaskan ke dalam plat tetes sebanyak 3 tetes kemudian ditambahkan 2 tetes larutan besi (III) klorida ( $\text{FeCl}_3$ ) 5%. Sampel positif mengandung fenolik jika terbentuk warna hijau, hitam kebiruan atau hitam kuat (Putri dan Hidajati, 2015: 3).

c. Uji Kandungan Tanin

Ekstrak dipipet lalu ditetaskan ke dalam plat tetes sebanyak 3 tetes kemudian ditambahkan dengan besi (III) klorida ( $\text{FeCl}_3$ ) 1% sebanyak 2 tetes. Sampel positif mengandung tanin jika larutan mengalami perubahan warna menjadi hijau kehitaman (Huliselan, dkk., 2015: 158).

### 3. Aktivitas Antibakteri

a. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian aktivitas antibakteri disterilkan terlebih dahulu, alat-alat gelas disterilkan dalam oven pada suhu  $180^\circ\text{C}$  selama  $\pm 30$  menit dan jarum ose dibakar dengan pembakaran di atas api langsung (Muljono, dkk., 2016: 166).

b. Peremajaan Bakteri

Masing-masing isolat *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* berasal dari biakan murninya diambil sebanyak 1 ose kemudian ditumbuhkan atau diinokulasikan dengan cara digores pada medium nutrient agar (NA) miring, kultur bakteri pada masing-masing agar miring diinkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 24 jam (Ngantung, dkk., 2016: 12).

c. Pembuatan Media

1) Pembuatan nutrient agar (NA)

Timbang NA sebanyak 2,3 gram kemudian dilarutkan dalam 100 mL H<sub>2</sub>O hangat kemudian dimasukkan di dalam erlenmeyer dan disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121<sup>0</sup>C (Hafizah, dkk., 2015: 65).

2) Pembuatan agar miring

Sebanyak 5 mL NA dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan disumbat dengan kapas steril kemudian dimiringkan sekitar 45°C, didiamkan hingga memadat.

d. Pembuatan Suspensi

Biakan hasil peremajaan diambil 1 ose pada media NA lalu disuspensikan dalam natrium klorida (NaCl) 0,9% dan dikocok. Pertumbuhan bakteri ditandai dengan adanya kekeruhan (Hafizah, dkk., 2015: 65).

e. Pengujian Aktivitas

Biakan bakteri pada suspensi diambil sebanyak 500 µL kemudian dituang ke dalam cawan petri steril dan media agar dituang ke dalam cawan petri steril yang berisi suspensi bakteri lalu dihomogenkan. Masing-masing ekstrak pada variasi 2%, 4%, 6%, 8%, kontrol positif dan kontrol negatif sebanyak 50 µL ditetaskan pada kertas cakram steril dan dibiarkan beberapa saat kemudian kertas cakram yang sudah kering diletakkan secara teratur di atas medium agar yang mengandung bakteri uji dan kemudian diberi label dan diinkubasi selama 3 x 24 jam pada suhu 37°C, setiap 1 x 24 jam zona bening yang terbentuk diukur dengan jangka sorong. Sebagai kontrol positif digunakan kloramfenikol sedangkan kontrol negatif digunakan dimetilsulfoksida (DMSO), daya hambat ekstrak ditentukan dengan cara mengurangi

diameter zona hambat yang terbentuk dengan diameter kertas cakram (5 mm)  
(Hafizah, dkk., 2015: 65-66).



## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil Pengamatan

##### 1. Ekstraksi

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan hasil evaporasi ekstrak sarang lebah dan madu hutan ditunjukkan pada tabel 4.1.

**Tabel 4.1 Hasil Evaporasi Ekstrak Sarang Lebah dan Madu Hutan**

Sampel	Pelarut	Ekstrak Kental	
		Bobot (gr)	Warna
Sarang lebah	Metanol	49,8934	Coklat tua
	Etil asetat	74,9197	Kuning
	n-Heksan	65,1822	Kuning
Madu Hutan	Metanol	97,8420	Coklat

##### 2. Uji Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan uji pendahuluan untuk mengidentifikasi senyawa aktif yang terdapat pada sampel. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan hasil skrining fitokimia pada sampel sarang lebah dan madu hutan dapat dilihat pada tabel 4.2.

**Tabel 4.2 Hasil Uji Skrining Fitokimia Sarang Lebah dan Madu Hutan**

Ekstrak	Uji Pendahuluan		
	Flavonoid	Asam Fenolat	Tanin
Metanol sarang lebah	+	+	+
Etil asetat sarang lebah	-	+	-
n-Heksan sarang lebah	-	+	-
Metanol madu hutan	+	+	-

Keterangan:

(+) = Teridentifikasi senyawa metabolit sekunder

(-) = Tidak teridentifikasi

### 3. Diameter Daya Hambat

Diameter daya hambat pada penelitian ini diukur dengan menggunakan metode difusi cakram. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh hasil pengukuran dari ke tiga jenis bakteri yang ditunjukkan pada tabel berikut.

#### a. Ekstrak Metanol Sarang Lebah

Hasil pengukuran diameter daya hambat ekstrak metanol sarang lebah terhadap ke tiga jenis bakteri uji ditunjukkan pada tabel sebagai berikut:

Tabel 4.3 Diameter daya hambat ekstrak metanol sarang lebah pada inkubasi 24 Jam

Konsentrasi	Diameter Daya Hambat (mm)		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
8%	2,64	3,8	0
6%	2,32	3,5	0
4%	1,3	2,22	0
2%	0	0	0
Kontrol positif	18,06	17,08	19,72
Kontrol negatif	0	0	0

Tabel 4.4 Diameter daya hambat ekstrak metanol sarang lebah pada inkubasi 48 Jam

Konsentrasi	Diameter Daya Hambat (mm)		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
8%	3,76	3,92	2,66
6%	3,52	3,58	2,5
4%	2,62	2,62	1,94
2%	0	0	0
Kontrol positif	18,26	17,6	20,26

Kontrol negatif	0	0	0
-----------------	---	---	---

**Tabel 4.5 Diameter daya hambat ekstrak metanol sarang lebah pada inkubasi 72 Jam**

Konsentrasi	Diameter Daya Hambat (mm)		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
8%	4,6	4,38	2,84
6%	4,3	3,6	2,58
4%	3,22	3,5	2,06
2%	0	0	0
Kontrol positif	20,6	18,68	23,82
Kontrol negatif	0	0	0

b. Ekstrak Etil Asetat Sarang Lebah

Hasil pengukuran diameter daya hambat ekstrak etil asetat sarang lebah terhadap ke tiga jenis bakteri uji ditunjukkan pada tabel sebagai berikut:

**Tabel 4.6 Diameter daya hambat ekstrak etil asetat sarang lebah pada inkubasi 24 jam**

Konsentrasi	Diameter Daya Hambat (mm)		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
8%	3,72	2,98	3,62

<b>6%</b>	2,62	2,26	2,22
<b>4%</b>	1,44	1,24	2,02
<b>2%</b>	0,86	0	0,06
<b>Kontrol positif</b>	16,18	16,32	16
<b>Kontrol negatif</b>	0	0	0

**Tabel 4.7 Diameter daya hambat ekstrak etil asetat sarang lebah pada inkubasi 48 jam**

<b>Konsentrasi</b>	<b>Diameter Daya Hambat (mm)</b>		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<b>8%</b>	0	0	0
<b>6%</b>	0	0	0
<b>4%</b>	0	0	0
<b>2%</b>	0	0	0
<b>Kontrol positif</b>	17,56	16,76	20,86
<b>Kontrol negatif</b>	0	0	0



**Tabel 4.8 Diameter daya hambat ekstrak etil asetat sarang lebah pada inkubasi 72 jam**

Konsentrasi	Diameter Daya Hambat (mm)		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
8%	0	0	0
6%	0	0	0
4%	0	0	0
2%	0	0	0
Kontrol positif	18,62	20,84	22,8
Kontrol negatif	0	0	0

c. Ekstrak n-Heksan Sarang Lebah

Hasil pengukuran diameter daya hambat ekstrak n-heksan sarang lebah terhadap ke tiga jenis bakteri uji ditunjukkan pada tabel sebagai berikut:

**Tabel 4.9 Diameter daya hambat ekstrak n-heksan sarang lebah pada inkubasi 24 jam**

Konsentrasi	Diameter Daya Hambat (mm)		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
8%	0	16,1	8,28
6%	0	13,68	7,4
4%	0	10,66	6,2

2%	0	5,7	5,38
Kontrol positif	23,6	18,1	18,42
Kontrol negatif	0	0	0

**Tabel 4.10 Diameter daya hambat ekstrak n-heksan sarang lebah pada inkubasi 48 jam**

Konsentrasi	Diameter Daya Hambat (mm)		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
8%	0	8,28	13,42
6%	0	7,4	9,24
4%	0	6,2	6,18
2%	0	5,38	2,04
Kontrol positif	23,46	18,42	24,6
Kontrol negatif	0	0	0

**Tabel 4.11 Diameter daya hambat ekstrak n-heksan sarang lebah pada inkubasi 72 jam**

Konsentrasi	Diameter Daya Hambat (mm)		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
8%	0	7,6	13,5

<b>6%</b>	0	6,56	8,3
<b>4%</b>	0	5,48	5,62
<b>2%</b>	0	4,6	2
<b>Kontrol positif</b>	14,5	20,28	23,68
<b>Kontrol negatif</b>	0	0	0

d. Ekstrak Metanol Madu Hutan

Hasil pengukuran diameter daya hambat ekstrak metanol madu hutan terhadap ke tiga jenis bakteri uji ditunjukkan pada tabel sebagai berikut:

**Tabel 4.12 Diameter daya hambat ekstrak metanol madu hutan pada inkubasi 24 jam**

<b>Konsentrasi</b>	<b>Diameter Daya Hambat (mm)</b>		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<b>8%</b>	0	2,9	1,9
<b>6%</b>	0	2,46	1,38
<b>4%</b>	0	1,1	0,68
<b>2%</b>	0	0,92	0,46
<b>Kontrol positif</b>	20,06	17,34	21,08
<b>Kontrol negatif</b>	0	0	0

Tabel 4.13 Diameter daya hambat ekstrak metanol madu hutan pada inkubasi 48 jam

Konsentrasi	Diameter Daya Hambat (mm)		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
8%	0	0	0,7
6%	0	0	0,32
4%	0	0	0,06
2%	0	0	0
Kontrol positif	19,9	17,06	20,56
Kontrol negatif	0	0	0

Tabel 4.14 Diameter daya hambat ekstrak metanol madu hutan pada inkubasi 72 jam

Konsentrasi	Diameter Daya Hambat (mm)		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
8%	0	0	0
6%	0	0	0
4%	0	0	0
2%	0	0	0
Kontrol positif	18,8	15,4	19

<b>Kontrol negatif</b>	0	0	0
------------------------	---	---	---

## **B. Pembahasan**

### **1. Ekstrak Sarang Lebah dan Madu Hutan**

Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu sarang lebah dan madu hutan, sampel sarang lebah diekstrak dengan metode maserasi yang menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran berbeda yaitu metanol, etil asetat dan n-heksan. Penggunaan pelarut yang berbeda digunakan untuk membandingkan aktivitas antibakteri pada sarang lebah dalam pelarut polar, semi polar dan non polar. Sedangkan madu hutan diekstrak dengan menggunakan pelarut metanol yang merupakan pelarut polar karena pada saat proses ekstraksi menggunakan pelarut etil asetat dan n-heksan, madu tidak dapat tercampur. Hal ini diduga bahwa pada madu banyak mengandung senyawa yang bersifat polar.

Metode maserasi dipilih karena proses pengerjaan yang mudah dan peralatan yang cukup sederhana, metode ini tidak menggunakan pemanasan sehingga sampel yang digunakan tidak rusak. Hal ini didukung oleh penelitian Asih (2012:74) yang menyatakan bahwa madu mengandung gula dan metabolit sekunder yang mudah rusak yang diakibatkan adanya pemanasan, hal ini terbukti madu mengalami perubahan warna menjadi coklat gelap yang menandakan bahwa madu telah rusak pada saat dilakukan hidrolisis gula pada suhu tinggi. Prinsip metode maserasi yaitu terjadinya pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang terdapat dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik.

a. Ekstraksi madu hutan

Perendaman dengan pelarut metanol dan madu hutan bertujuan untuk memisahkan zat aktif yang terdapat pada madu hutan sehingga terbentuk dua lapisan yaitu lapisan bawah berwarna putih yang merupakan residu dan lapisan atas berwarna coklat merupakan filtrat. Filtrat diuapkan dengan evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental pada suhu 45-50°C agar sampel tidak rusak. Berdasarkan hasil yang diperoleh bobot ekstrak kental madu hutan sebanyak 97,8420 gram dan berwarna coklat.

b. Ekstraksi sarang lebah

Perendaman antara sarang lebah dan pelarut yang berbeda kepolarannya bertujuan untuk memisahkan zat aktif pada sarang lebah dengan tingkat kepolaran yang berbeda. Perendaman dilakukan selama 3 x 24 jam dengan mengganti pelarut setiap 1 x 24 jam agar pelarut tidak jenuh dan dapat mengikat senyawa aktif yang masih tertinggal dalam sampel. Setelah itu dilakukan penyaringan untuk memisahkan filtrat dan residu, selanjutnya filtrat diuapkan dengan evaporator pada suhu 45-50°C agar sampel tidak rusak dan diperoleh ekstrak kental. Berdasarkan hasil yang diperoleh bobot ekstrak kental metanol sarang lebah yaitu sebanyak 49,8934 gram dengan warna ekstrak coklat tua, bobot ekstrak etil asetat sarang lebah diperoleh 74,9197 gram dengan warna ekstrak yaitu kuning sedangkan bobot ekstrak n-heksan sarang lebah yaitu sebanyak 65,1822 gram dengan warna ekstrak kuning.

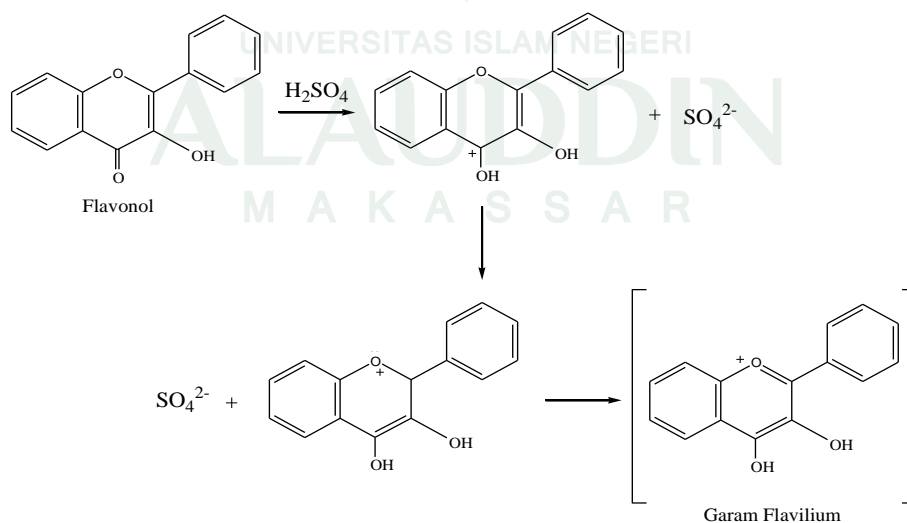
## 2. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi adanya senyawa aktif yang terdapat pada sampel madu hutan dan sarang lebah dan merupakan uji pendahuluan. Berdasarkan hasil penelitian yang ditunjukkan pada tabel 4.2 diperoleh hasil positif pada ekstrak metanol sarang lebah mengandung senyawa flavonoid dan

tanin, ekstrak etil asetat sarang lebah dan ekstrak n-heksan sarang lebah mengandung senyawa asam fenolat. Hal ini sesuai dengan penelitian Yuliana, dkk. (2015: 70), menyatakan bahwa dalam sarang lebah terdapat kandungan senyawa aktif yaitu asam fenolat, flavonoid dan tanin.

Berdasarkan hasil uji pendahuluan yang ditunjukkan pada tabel 4.2 diperoleh hasil positif ekstrak metanol madu mengandung senyawa flavonoid dan asam fenolat. Hal ini sesuai dengan penelitian Sumarlin, dkk. (2014: 139), menyatakan bahwa madu memiliki senyawa bioaktif yang mampu bertindak sebagai zat penetralisir racun diantaranya yaitu senyawa glikosida dimana senyawa tersebut terdiri dari fruktosa (glikon) dan asam-asam organik seperti asam fenolat.

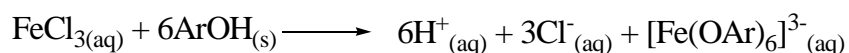
Uji kandungan senyawa flavonoid digunakan asam sulfat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) pekat untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh  $\text{H}^+$  karena sifatnya yang elektrofilik. Jika dalam ekstrak terdapat senyawa flavonoid akan terbentuk garam flavilium yang berwarna merah atau jingga dengan reaksi seperti pada gambar 4.1.



Gambar 4.1 Mekanisme reaksi senyawa flavonoid dengan  $\text{H}_2\text{SO}_4$

(Sumber: Setyowati, dkk., 2014: 275)

Uji kandungan senyawa asam fenolat digunakan larutan besi (III) klorida ( $\text{FeCl}_3$ ) yang menunjukkan warna hijau yang menandakan bahwa dalam sampel positif mengandung senyawa fenolik. Persamaan reaksinya dinyatakan sebagai berikut.



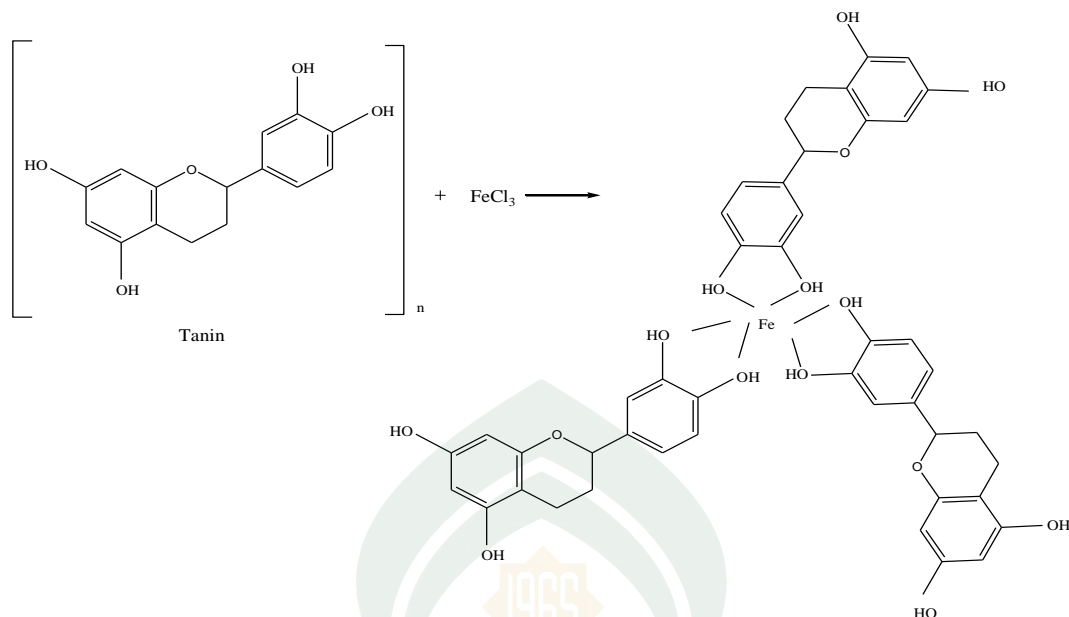
Gambar 4.2 Reaksi uji fenolik

(Sumber: Putri dan Hidajati, 2015: 4)

Uji kandungan senyawa tanin digunakan larutan besi (III) klorida ( $\text{FeCl}_3$ ) 1%, perubahan warna yang terjadi karena penambahan  $\text{FeCl}_3$  karena terbentuknya  $\text{Fe}^{3+}$  tanin dan  $\text{Fe}^{3+}$  polifenol. Atom oksigen pada tanin dan polifenol mempunyai pasangan elektron yang mampu mendonorkan elektronnya pada  $\text{Fe}^{3+}$  yang mempunyai orbital d kosong membentuk ikatan kovalen koordinat sehingga menjadi satu kompleks. Terbentuknya warna hijau kehitaman pada ekstrak setelah penambahan  $\text{FeCl}_3$  1% karena tanin akan bereaksi dengan ion  $\text{Fe}^{3+}$  membentuk kompleks, reaksi tanin dengan  $\text{FeCl}_3$  ditunjukkan pada gambar berikut.

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI  
ALAUDDIN  
MAKASSAR



Gambar 4.3 Reaksi tanin dengan  $\text{FeCl}_3$ 

(Sumber: Setyowati, dkk., 2014: 276)

### 3. Daya Hambat Ekstrak Metanol Sarang Lebah dan Madu Hutan

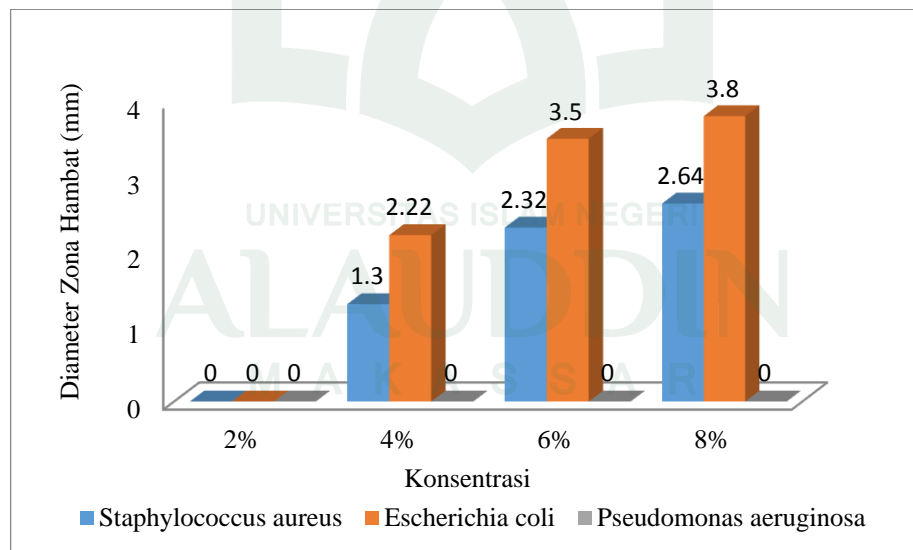
Uji daya hambat merupakan suatu metode pengujian yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan suatu bahan dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Daya hambat dilakukan pada bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*, penentuan efektifitas antibakteri dilakukan berdasarkan perbandingan diameter zona hambat yang muncul disekitar kertas cakram yang telah diberikan zat antibakteri berupa sampel uji.

Uji daya hambat ekstrak sarang lebah dan madu hutan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan menumbuhkan terlebih dahulu bakteri uji, bakteri ini ditumbuhkan pada media *nutrient agar* (NA) yang memiliki nutrisi yang cukup untuk pertumbuhan bakteri. Media ini disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu  $121^\circ\text{C}$  selama 15 menit agar pada saat menumbuhkan bakteri uji tidak terkontaminasi dengan bakteri lain, kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu

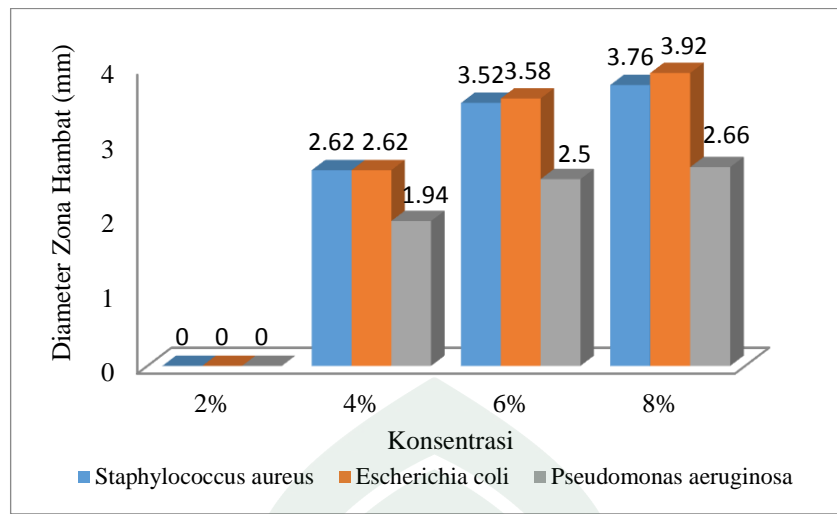
37°C selama 24 jam. Bakteri uji yang tumbuh kemudian disuspensikan ke dalam NaCl 0,9% dan dikocok hingga keruh, kekeruhan tersebut merupakan hasil pembelahan bakteri. Suspensi bakteri ini digunakan pada pengujian antibakteri.

Aktivitas antibakteri pada penelitian ini diuji dengan menggunakan metode difusi cakram dengan prinsip kerjanya yaitu bahan uji dijenuhkan ke dalam kertas cakram. Kertas cakram diletakkan di atas media agar padat yang telah dicampurkan dengan bakteri yang diuji kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona bening yang terdapat disekitar kertas cakram diamati untuk menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri. Penelitian ini menggunakan kloramfenikol sebagai kontrol positif atau antibiotik pembanding dan kontrol negatif digunakan dimetilsulfoksida (DMSO).

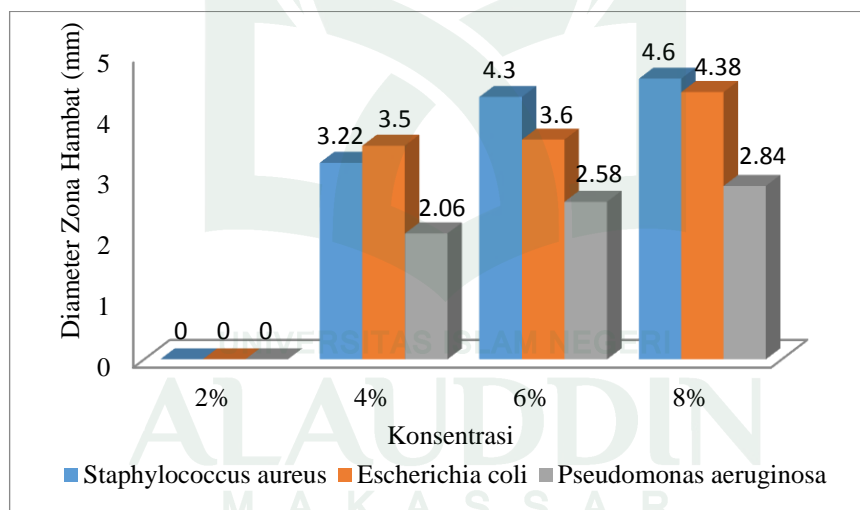
a. Ekstrak Metanol Sarang Lebah



**Gambar 4.4 Diagram diameter daya hambat ekstrak metanol sarang lebah pada inkubasi 24 jam**



**Gambar 4.5 Diagram diameter daya hambat ekstrak metanol sarang lebah pada inkubasi 48 jam**



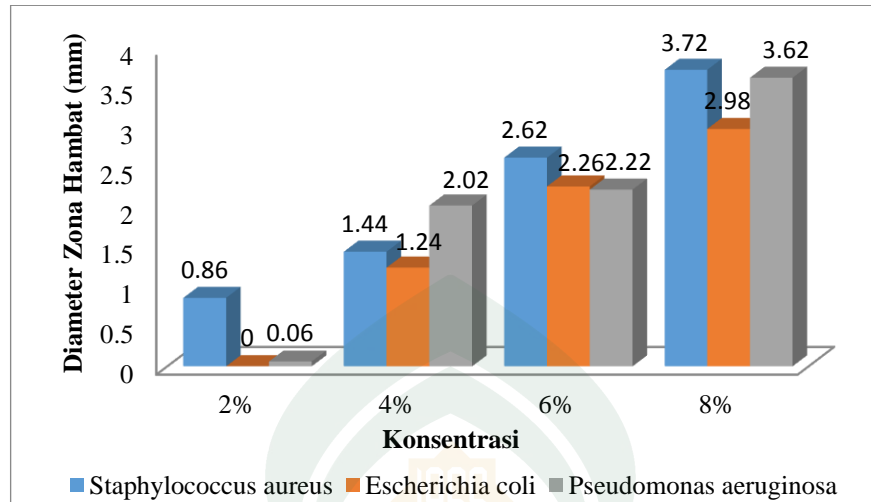
**Gambar 4.6 Diagram diameter daya hambat ekstrak metanol sarang lebah pada inkubasi 72 jam**

Gambar 4.4, 4.5 dan 4.6 menunjukkan diagram diameter daya hambat ekstrak metanol sarang lebah terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Diameter daya hambat terbesar dari ke tiga jenis bakteri uji dengan waktu inkubasi 24 jam terdapat pada bakteri *Escherichia coli* sebesar 3,8 mm pada konsentrasi 8% hal ini di duga pada

konsentrasi 8% kandungan antibakteri atau zat aktif dalam ekstrak mulai meningkat. Sedangkan pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* tidak terlihat adanya zona hambat. Daya hambat terbesar pada bakteri *Staphylococcus aureus* terdapat pada konsentrasi 8% sebesar 2,64 mm. Pada konsentrasi 2% tidak terlihat adanya zona hambat dan terjadi peningkatan pada konsentrasi 4%, 6% dan 8%. Hal ini sesuai dengan penelitian (Fitriana, 2013: 10) yang menyatakan bahwa besarnya diameter yang menunjukkan daya hambat pertumbuhan bakteri berbanding lurus dengan konsentrasi bahan yang diberikan, semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan maka semakin besar pula kemampuan zat aktif untuk menghambat pertumbuhan bakteri.

Waktu inkubasi 48 jam menunjukkan diameter terbesar pada bakteri *Escherichia coli* sebesar 3,92 mm dengan konsentrasi 8% dan pada konsentrasi 2% tidak terlihat adanya respon penghambatan. Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 2% juga tidak terlihat adanya penghambatan. Namun, pada konsentrasi 4% terjadi peningkatan diameter daya hambat seiring meningkatnya konsentrasi. Waktu inkubasi 78 jam diameter terbesar terdapat pada bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 4,6 mm. Berdasarkan diagram yang ditunjukkan pada gambar 4.4, 4.5 dan 4.6, terlihat adanya kenaikan diameter daya hambat dari ke tiga jenis bakteri uji dengan bertambahnya lama inkubasi sehingga menandakan bahwa ekstrak memiliki sifat bakteriosida yang dapat membunuh bakteri.

b. Ekstrak etil asetat sarang lebah



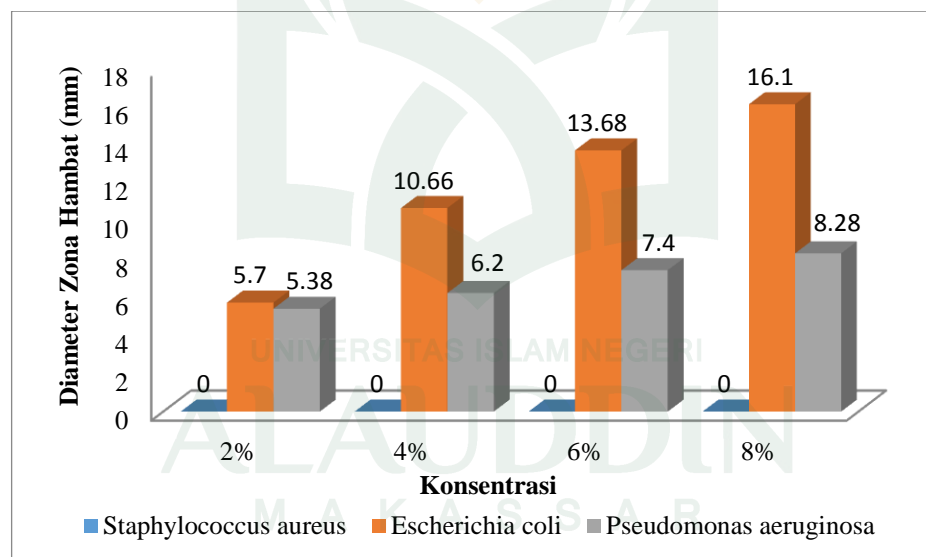
**Gambar 4.7 Diagram diameter daya hambat ekstrak etil asetat sarang lebah pada inkubasi 24 jam**

Gambar 4.7 menunjukkan diagram diameter daya hambat ekstrak etil asetat sarang lebah terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Diameter daya hambat terbesar terdapat pada bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 3,72 mm dengan konsentrasi 8% pada inkubasi 24 jam, pada bakteri *Staphylococcus aureus* daya hambatnya mulai terlihat pada konsentrasi 2% dan meningkat seiring besarnya konsentrasi. Menurut penelitian Yuliana, dkk. (2015: 70), pada ekstrak campuran keseluruhan sarang (mix) yang menggunakan pelarut alkohol 70% memiliki daya hambat terhadap bakteri *S. aureus* dengan luas zona bening sekitar 90 mm.

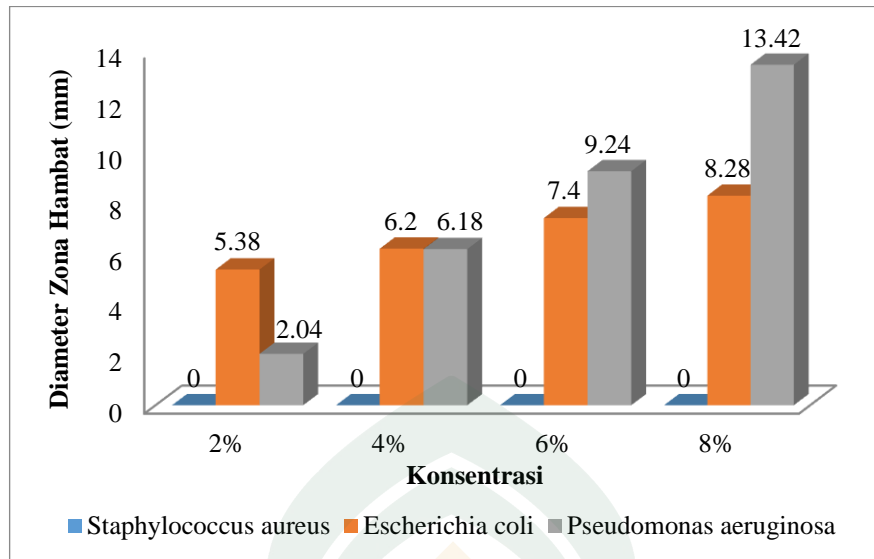
Daya hambat pada bakteri *Escherichia coli* mulai terlihat pada konsentrasi 4% dan terjadi peningkatan pada konsentrasi 6% dan 8%, sedangkan pada konsentrasi 2% tidak terlihat adanya zona hambat. Hal ini diduga pada konsentrasi 2%, zat aktif pada ekstrak tersebut hanya sedikit sehingga kemampuannya untuk

menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* sangat kurang. Diameter daya hambat pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* terbesar terlihat pada konsentrasi 8% dengan lama inkubasi 24 jam sebesar 3,62 mm. Menurut penelitian Yuliana, dkk. (2015: 70), bahwa pada ekstrak campuran keseluruhan sarang (mix) memiliki daya hambat terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan luas zona bening disekitar 60 mm. Berdasarkan tabel 4.7 dan 4.8, ekstrak etil asetat pada waktu inkubasi 48 jam dan 72 jam tidak terlihat adanya penghambatan dari ke tiga jenis bakteri uji sehingga ekstrak ini hanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau bersifat bakteriostatik.

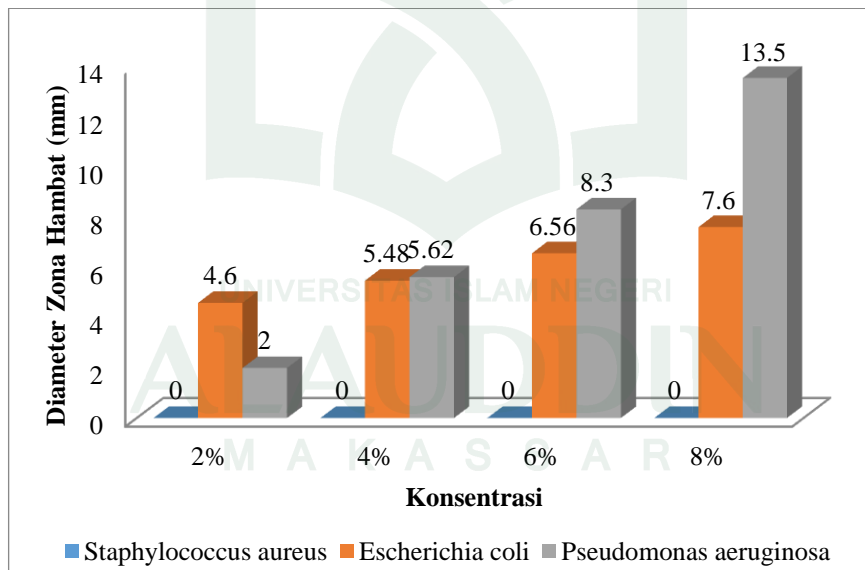
c. Ekstrak n-heksan sarang lebah



**Gambar 4.8 Diagram diameter daya hambat ekstrak n-heksan sarang lebah pada inkubasi 24 jam**



**Gambar 4.9 Diagram diameter daya hambat ekstrak n-heksan sarang lebah pada inkubasi 48 jam**



**Gambar 4.10 Diagram diameter daya hambat ekstrak n-heksan sarang lebah pada inkubasi 72 jam**

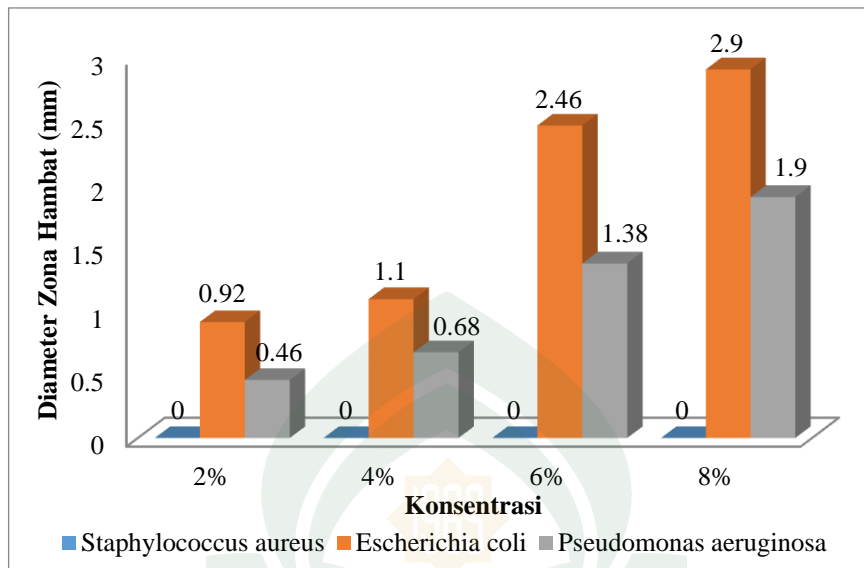
Gambar 4.8, 4.9, 4.10 menunjukkan diagram diameter daya hambat ekstrak n-heksan sarang lebah terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Daya hambat pada bakteri

*Staphylococcus aureus* pada inkubasi 24 jam dengan konsentrasi 2%, 4%, 6% dan 8% jam tidak terbentuk zona bening disekitar kertas cakram. Hal ini diduga karena kandungan zat aktif pada ekstrak sangat sedikit sehingga tidak memiliki efek menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Menurut penelitian Dewi, dkk. (2013: 7), bahwa aktivitas antibakteri ekstrak n-heksan kurang efektif atau lemah terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

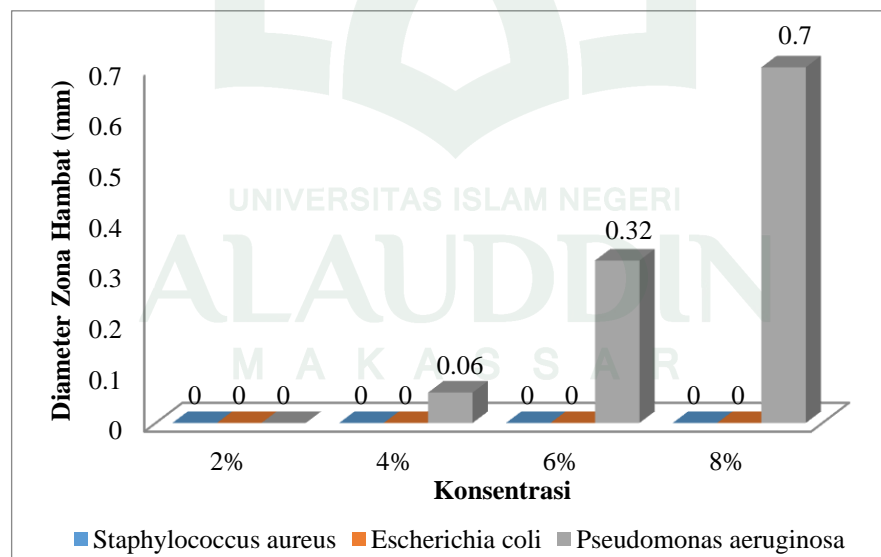
Diameter daya hambat terbesar pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* terlihat pada konsentrasi 8% sebesar 8,28 mm. Pada konsentrasi 2% mulai terlihat adanya zona hambat dan meningkat pada konsentrasi 4%, 6% dan 8%. Diameter daya hambat terbesar *Escherichia coli* pada bakteri terlihat pada konsentrasi 8% sebesar 16,1 mm, pada konsentrasi 6% sebesar 13,68 mm, 4% sebesar 10,66 mm dan 2% sebesar 5,7 mm. Diameter daya hambat pada waktu inkubasi 48 jam dan 72 jam terjadi penurunan dengan bertambahnya lama inkubasi. Hal ini menandakan bahwa ekstrak ini hanya bersifat bakteriostatik dan daya hambat yang diperoleh termasuk golongan kuat, sedang dan lemah. Menurut Davis dan Stout, 1971, dalam Ngajow, dkk. (2013: 132), bahwa Ketentuan antibakteri yaitu daerah hambatan 20 mm atau lebih berarti sangat kuat, daerah hambatan 10 sampai 20 mm berarti kuat, 5 sampai 10 mm berarti sedang dan daerah hambatan 5 mm atau kurang berarti lemah.



d. Ekstrak metanol madu hutan



**Gambar 4.11** Diagram diameter daya hambat ekstrak metanol madu hutan pada inkubasi 24 jam



**Gambar 4.12** Diagram diameter daya hambat ekstrak metanol madu hutan pada inkubasi 48 jam

Gambar 4.11, 4.12 menunjukkan diagram diameter daya hambat ekstrak metanol madu hutan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Diameter daya hambat pada konsentrasi 2%, 4%, 6% dan 8% pada waktu inkubasi 24 jam, 48 jam dan 72 jam tidak terbentuk zona bening disekitar kertas cakram sehingga tidak memiliki efek menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Menurut penelitian Fadhma, dkk. (2015: 12), yang menyatakan bahwa madu hutan Seulawah dan Trumon pada perlakuan konsentrasi 25% tidak terbentuk zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, daya hambat madu dipengaruhi oleh semakin tinggi konsentrasi madu semakin besar zona hambat yang terbentuk yang mengindikasikan bahwa semakin kuat daya hambat madu terhadap pertumbuhan bakteri.

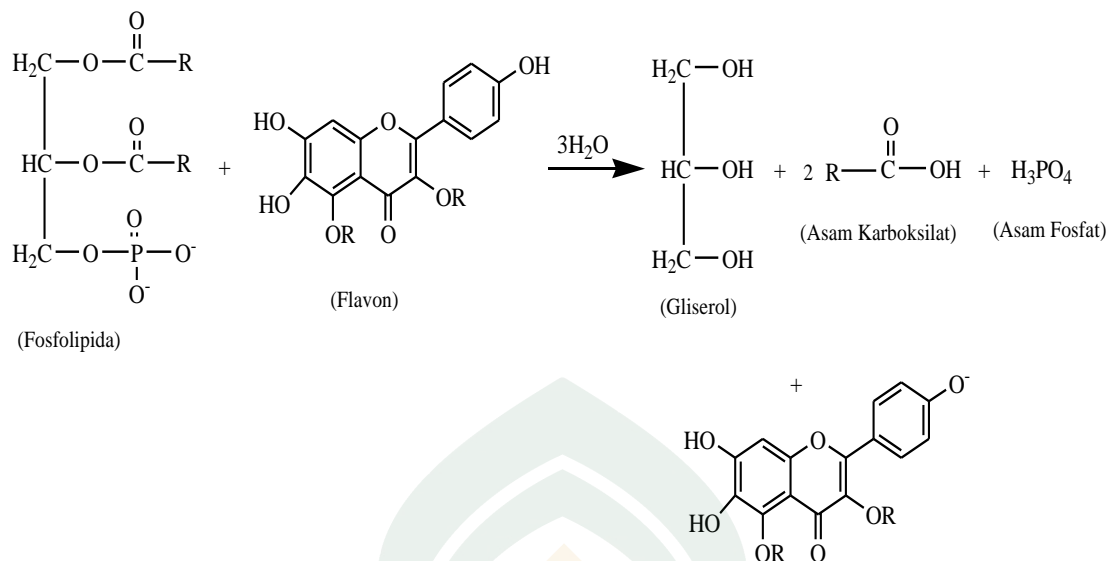
Diameter daya hambat terbesar dengan inkubasi 24 jam pada bakteri *Escherichia coli* terlihat pada konsentrasi 8% sebesar 2,9 mm. Pada konsentrasi 2%, 4%, 6% dan 8% terjadi peningkatan daya hambat, sedangkan pada inkubasi 48 jam tidak terlihat zona hambat. Menurut penelitian Sholihah (2013: 17), bahwa madu hutan SM1 dan SB1 memiliki aktivitas antibakteri klasifikasi sedang terhadap bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 25% dan pada konsentrasi 50% aktivitas antibakteri kedua madu masuk dalam klasifikasi kuat.

Diameter daya hambat terbesar pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* terlihat pada konsentrasi 8% sebesar 1,9 mm. Dari diagram tersebut terlihat bahwa pada waktu inkubasi 48 jam terjadi penurunan diameter daya hambat. Menurut penelitian Sholihah (2013: 17), bahwa madu hutan KB1 aktivitas antibakterinya meningkat dengan bertambahnya konsentrasi karena aktivitasnya lemah pada konsentrasi 25% dan aktivitasnya mulai sedang pada konsentrasi 50% terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Berdasarkan pada tabel 4.14, ekstrak metanol

madu hutan pada waktu inkubasi 72 jam tidak terlihat adanya penghambatan dari ke tiga jenis bakteri uji sehingga ekstrak ini hanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau bersifat bakteriostatik.

Berdasarkan data yang diperoleh bahwa ekstrak metanol sarang lebah memiliki daya hambat antibakteri yang paling bagus, hal tersebut dikarenakan sampel ekstrak metanol sarang lebah dapat menghambat ke tiga jenis bakteri uji dan daya hambat yang diperoleh meningkat seiring naiknya konsentrasi dan berdasarkan hasil uji pendahuluan ekstrak metanol sarang lebah diduga mengandung senyawa metabolit sekunder yang lebih banyak dibandingkan dengan sampel ekstrak uji lainnya. Senyawa metabolit sekunder yang teridentifikasi memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri.

Senyawa flavonoid berperan dalam merusak fosfolipid pada membran sitoplasma bakteri, ion  $H^+$  dari flavonoid akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipid akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat, dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipid tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma, akibatnya membran sitoplasma akan bocor dan zat-zat untuk metabolisme sel bakteri akan terbuang keluar hingga bakteri akan mati. Gugus OH dari fenol dapat bersifat racun bagi protoplasma sel, dapat menembus dan merusak dinding sel serta mendenaturasi protein enzim dalam sitoplasma dengan membentuk ikatan hidrogen pada sisi aktif enzim (Agustina, 2007, dalam Lutpiatina, 2015: 7). Reaksi penguraian fosfolipida pada membran sitoplasma bakteri oleh flavon ditunjukkan dalam gambar 4.16.



Gambar 4.13 Reaksi penguraian fosfolipida pada membran sitoplasma bakteri oleh flavon

(Sumber: Prajitno, 2007, dalam Retnowati, dkk., 2011: 7)

Mekanisme antimikroba senyawa asam fenolat adalah mengganggu kerja di dalam membran sitoplasma mikroba termasuk diantaranya adalah mengganggu transpor aktif dan kekuatan proton (Davidson, 1993 dalam Nuraini, 2007: 29). Mekanisme penghambatan senyawa fenolat pada mikroorganisme dikarenakan oleh gangguan pada membran sel dan sintesis komponen struktural bakteri. Aktivitas antimikroba dari senyawa fenolik terkait dengan inaktivasi enzim seluler atau disebabkan oleh perubahan permeabilitas membran. Permeabilitas membran yang meningkat merupakan faktor utama dalam mekanisme antimikroba, dimana senyawa dapat mengganggu membran dan menyebabkan kematian sel (Pratiwi, dkk., 2013: 113).

Tanin merupakan salah satu senyawa kimia yang termasuk dalam golongan polifenol yang diduga dapat mengikat salah satu protein membran yang dimiliki oleh bakteri dan apabila hal ini terjadi maka dapat merusak ketersediaan reseptor pada permukaan sel bakteri sehingga mengganggu proses metabolisme sel tersebut

(Pratiwi, dkk., 2013: 113). Tanin memiliki aktifitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adhesin sel mikroba juga menginaktifkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri yaitu dengan menghambat enzim *reverse* transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Tanin mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna, hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati (Ngajow, dkk., 2013: 131).



## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan:

1. Aktivitas antibakteri ekstrak metanol sarang lebah memiliki aktivitas tertinggi pada bakteri *E. coli* yaitu 3,8 mm pada konsentrasi 8%, ekstrak etil asetat sarang lebah pada bakteri *S. aureus* yaitu 3,72 mm pada konsentrasi 8%, ekstrak n-heksan sarang lebah pada bakteri *E. coli* yaitu 16,1 mm pada konsentrasi 8% dan ekstrak metanol madu hutan pada bakteri *E. coli* yaitu 2,9 mm pada konsentrasi 8%.
2. Semakin tinggi konsentrasi maka semakin besar pula daya hambat ekstrak sarang lebah dan madu hutan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

#### **B. Saran**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka saran yang dapat diberikan yaitu:

1. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak sarang lebah dan madu hutan dengan menggunakan metode *in-vivo* dan menggunakan beberapa metode pembanding dalam pengujian aktivitas seperti metode sumur atau metode dilusi cair.
2. Perlu dilakukan pemurnian lebih lanjut pada ekstrak sarang lebah dan madu hutan untuk mengetahui senyawa aktif yang lebih berperan sebagai antibakteri.

## DAFTAR PUSTAKA

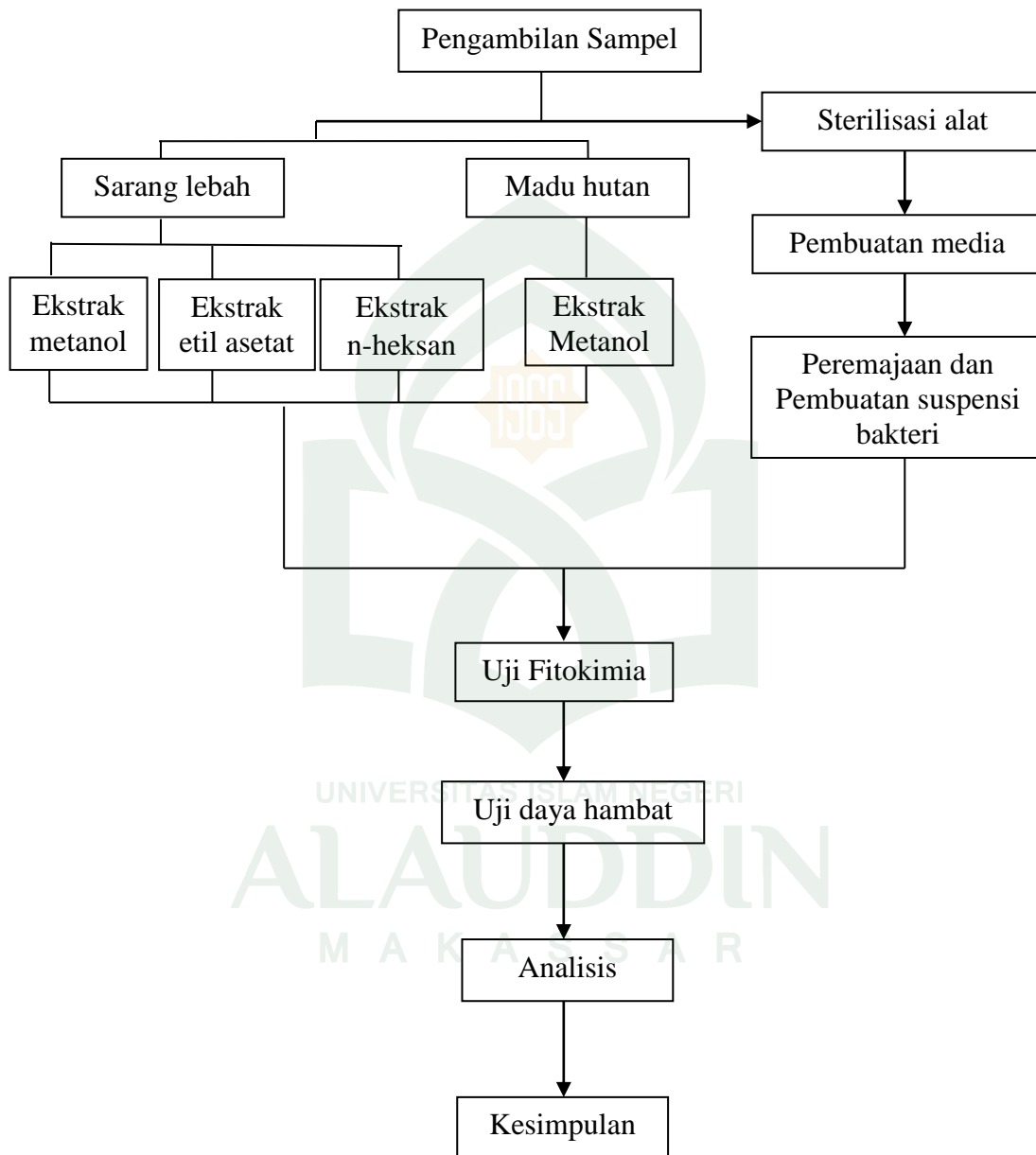
- Alam, Andi Syamsul. "Uji Daya Hambat Ekstrak Alga Coklat Spesies *Padina Sp* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas Gingivalis* dan *Staphylococcus Aureus*". *Skripsi*. Makassar: Fakultas Kedokteran Gigi UNHAS, 2015.
- Asih, Ida Ayu Raka Astiti, Ketut Ratnayanti dan Ida Bagus Swardana. "Isolasi dan Identifikasi Senyawa Golongan Flavonoid dari Madu Kelengkeng (*Nephelium Longata L.*)". *Jurnal Kimia* 6, no. 1 (2012): h. 73.
- Bahreisy, H. Salim dan Bahreisy, H. Said. *Terjemah Singkat Tafsir Ibnu Katsier Jilid 4*. Surabaya: Penerbit P.T. Bina Ilmu, 1988.
- Bakri, Zakia, dkk. "Deteksi Keberadaan Bakteri *Eschericia coli* O157:H7 pada Feses Penderita Diare dengan Metode Kultur dan PCR". *JST Kesehatan* 5, no. 2 (2015): h. 185.
- Banowu, Hendri. "Studi Perkembangan Koloni dan Produksi Lebah *Trigona Sp.* dari Posisi Stup Yang Berbeda". *Skripsi*. Kendari: Fakultas Kehutanan dan Ilmu Lingkungan HALU OLEO, 2016.
- Boateng, Joshua dan Diunase, Keshu Nso. "Comparing the Antibacterial and Functional Properties of Cameroonian and Manuka Honeys for Potential Wound Healing-Have We Come Full Cycle in Dealing with Antibiotic Resistance?". *Journal Moleculas ISSN 1420-3049* (2015): h. 2.
- Departemen Agama RI. *Al-Qur'an dan Terjemahannya*. Jakarta: Penerbit CV, 2002.
- Dewi, Hartami, dkk. "Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daging Dan Biji Buah Bintaro (*Cerbera manghas L.*)". *Jurnal* (2013): h. 7.
- Dewi M, Soerya, dkk. "Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum Ruiz & Pav.*)". *Jurnal Penelitian Kimia* 9, no. 2 (2013): h. 33.
- Elliza, Nurul. "Pengaruh Pemberian Madu Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*". *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah, 2010.
- Fadhmi, dkk. "Perbandingan Daya Hambat Madu Seulawah Dengan Madu Trumon Terhadap *Staphylococcus aureus* Secara *In Vitro*". *Jurnal Biotik ISSN 2337-9812* 3, no. 1 (2015): h. 12.
- Fitriana, Indah Nur. "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dan *Escherichia coli* ATCC 11229 Secara *IN VITRO*". *Naskah Publikasi*. Surakarta: Fakultas Kedokteran UMS, 2013.
- Fitrianingsih, Seri Peni, dkk. "Aktivitas Antibakteri Madu Hitam Pahit dan Madu Hitam Manis Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*". *Jurnal Farmasi Genetika* 01, no. 02 (2014): h. 36.
- Haeria. *Kimia Produk Alami*. Makassar: Alauddin-press, 2014.

- Hafizah, Indria, dkk. "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Rumput Laut (*Eucheuma sp*) pada Berbagai Tingkat Konsentrasi Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*". FK UHO (2015): h. 65-66.
- Hamzah, Desri. "Produksi Lebah Madu (*Apis cerana*) yang Dipelihara pada Sarang Tradisional dan Modern Di Desa Kuapan Kecamatan Tambang Kabupaten Kampar". *Skripsi*. Riau: Fakultas Pertanian dan Peternakan UIN SUSKA RIAU, 2011.
- Huliselan, Yosina M., dkk. "Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Etil Asetat dan n-Heksan dari daun Sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.)". *Jurnal Ilmiah Farmasi* 4, no. 3 (2015): h. 158.
- Hutagalung, Laura Evelina. "Perkembangan Perolehan Madu Lebah Hutan (*Apis dorsata*) Oleh Pemanen Madu Di Kabupaten Tapanuli Utara". *Skripsi*. Bogor: Fakultas Kehutanan IPB, 2008.
- Inayatullah, Seila. "Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper Betle L.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*", *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah, 2012.
- Ilyas, Asriani. *Senyawa Bahan Alam*. Makassar: Alauddin-Press, 2013.
- Kusumawati, Eko. "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith) Terhadap Bakteri *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli* Menggunakan Metode Difusi Sumur". *Jurnal Sains dan Terapan Politeknik Hasnur* 4, no. 1 (2016): h. 27.
- Lauma, Sartika Widia, dkk. "Uji Efektifitas Perasan Air Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro". *Jurnal Ilmiah Farmasi* 4, no. 4 (2015): h. 10.
- Lutpiatina, Leka. "Efektivitas Ekstrak Propolis Lebah Lelutut (*Trigona spp*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*". *Jurnal Skala Kesehatan* 6, no. 1 (2015): h. 6-7.
- Muljono, Patrick, dkk. "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak daun Mayana Jantan (*Coleus atropurpureus* Benth) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus* Sp. dan *Pseudomonas* Sp.". *Jurnal e-Biomedik (eBm)* 4, no. 1 (2016): h. 166.
- Munte, Liliyanti, dkk. "Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Daun Prasman (*Eupatorium triplinerve* Vahl.)". *Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi* 4, no. 3 (2015): h. 43.
- Nadhillah, Nyimas Farisa. "The Activity of Antibacterial Agent of Honey Against *Staphylococcus Aureus*". *Jurnal Majority* 3, no. 7 (2014): h. 96-98.
- Naqvi, Syed Ali Raza, dkk. "Antioxidant and Antibacterial Evaluation of Honey Bee Hive Extracs Using in Vitro Models". *Jurnal Mediterr J Nutr Metab*, no. 6 (2013): h. 251.
- Nuraini, Annisa Dian. "Ekstraksi Komponen Antibakteri dan Antioksidan dari Biji Teratai (*Nymphaea pubescens* Willd)". *Skripsi*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian IPB, 2007.



- Nurzakiyah. "Isolasi dan Identifikasi Molekuler Bakteri Endofit *Caulerpa racemosa* serta Aktivitas Antibakterinya Terhadap *Staphylococcus aureus* dan Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)". *Skripsi*. Makassar: Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin, 2016.
- Ngajow, Mercy, dkk. "Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In vitro*". *Jurnal MIPA UNSRAT Online* 2, no.2 (2013): h. 131-132.
- Ngantung, Angeline E.C, dkk. " Uji Aktivitas Antibakteri dari Spons *Dictyonella funicularis* dan *Phyllospongia lamellosa* yang Diambil pada Perairan Bunaken". *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis* 2, no. 1 (2016): h. 11-12.
- Pratiwi, Donna, dkk. "Efek Anti Bakteri Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap *Salmonella typhi* Secara *In Vitro*". *Jurnal* 9, no. 2 (2013): h. 113.
- Priyanto, Alit Rahmat. "Segienam pada Sarang Lebah Madu dalam Sains dan Islam". *Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga, 2009.
- Putri, Ade Aprilia Surya dan Nurul Hidajati. "Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Fenolik Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Nyiri Batu (*Xylocarpus moluccensis*)". *UNESA Journal of Chemistry* 4, no. 1 (2015): h. 3.
- Puzi H, Wina Sonya, dkk. "Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Tumbuhan Sirih Merah (*Piper Crocatum Ruiz dan Pav*)". *Jurnal ISSN* 2460-6472 (2015): h. 53-61.
- Rahmadani, Fitri. "Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Pseudomonas aeruginosa*". *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah, 2015.
- Retnowati, Yuliana, dkk. "Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Media yang Diekspos dengan Infus Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*)". *Jurnal Saintek* 6, no. 2 (2011): h. 7.
- Setyowati, Widiastuti Agustina Eko, dkk. "Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk". *Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI* ISBN: 979363174-0 (2014): h. 275.
- Shihab, M. Quraish. *Tafsir Al-Misbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an Volume 6*. Jakarta: Lentera Hati, 2002.
- Shihab, M. Quraish. *Tafsir Al-Mishbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an Volume 10*. Jakarta: Lentera Hati, 2002.
- Sholihah, Jamilyadhatus. "Aktivitas Antibakteri Dan Antioksidan Tiga Jenis Madu Hutan Indonesia", *Skripsi*. Bogor: Fakultas Kehutanan IPB, 2013.
- Sudrajat, dkk. "Analisis Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kasar Etanol Daun Meranti Merah (*Shorea leprosula* Miq.) dan Sifat Antibakterinya Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*". *Jurnal Trop. Pharm. Chem* 1, no. 4 (2012): h. 313-314.

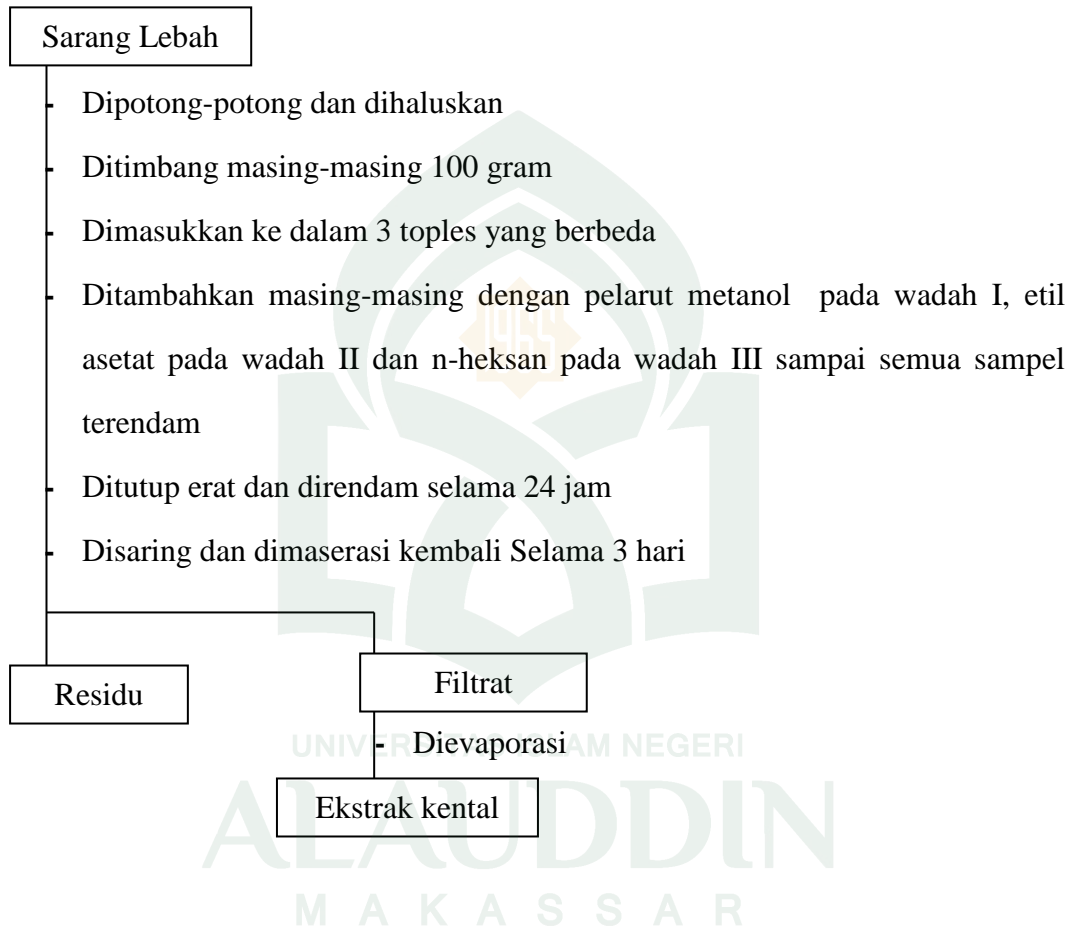
- Sulistyaningsih, Rr, dkk. "Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Bayam Duri (*amaranthus spinosus*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan Metode Difusi Agar". *Jurnal Farmaka* 14, no. 1 (2016): h. 3.
- Sumarlin, La Ode, dkk. "Aktivitas Antikanker dan Antioksidan Madu di Pasaran Lokal Indonesia". *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia* 19, no. 3 (2014): h. 139.
- Sundari, Ida. "Identifikasi Senyawa dalam Ekstrak Etanol Biji Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.)". *Skripsi*. Surakarta: Fakultas MIPA UNS Sebelas Maret, 2010.
- Utami, Eka Rahayu. "Antibiotika, Resistensi dan Rasionalitas Terapi". *Jurnal SAINSTIS* 1, no. 1 (2012): 124.
- Wachidah, Rizky Nurlailatul. "Pengaruh Konsentrasi Larutan Madu Lebah Hutan (*Apis dorsata*) Terhadap Hambatan Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas gingivalis* Dominan Gingivitis (Kajian *in vitro*)". *Publikasi Ilmiah*. Surakarta: Fakultas Kedokteran Gigi UMS, 2016.
- Wardhana, Bagus Kusuma. "Efektifitas Ekstrak Madu Karet dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*". *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah, 2014.
- Winarwi. "Uji Viabilitas Bakteri dan Aktivitas Enzim Bakteri Proteolitik pada Media Carrier Bekatul". *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan UNS Sebelas Maret, 2006.
- Yuliana, Renita, dkk. "Daya Antimikrobia Sarang Lebah Madu *Trigona* spp terhadap Mikrobia Patogen". *Jurnal BIOEDUKASI* 8, no. 1 (2015): h. 67-70.
- Zulhawa, Diniati Juliana. "Daya Hambat Madu Sumbawa Terhadap Pertumbuhan Kuman *Staphylococcus Aureus* Isolat Infeksi Luka Operasi RS Islam Amal Sehat Sragen". *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Kedokteran UNS Sebelas Maret, 2010.

**Lampiran 1: Skema Penelitian**

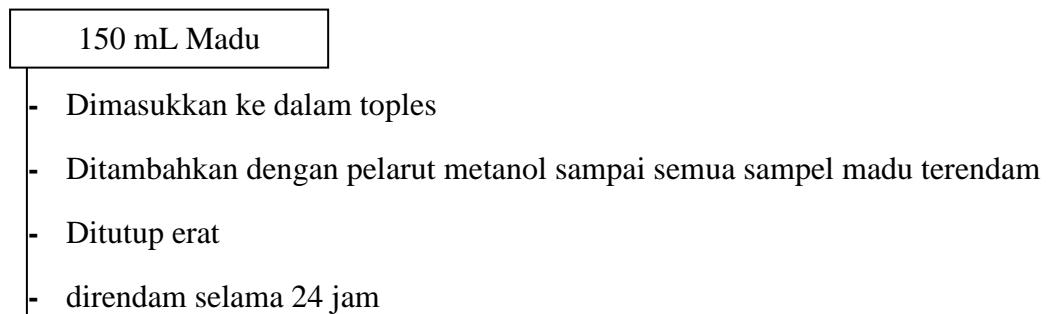
## Lampiran 2: Skema Prosedur Kerja

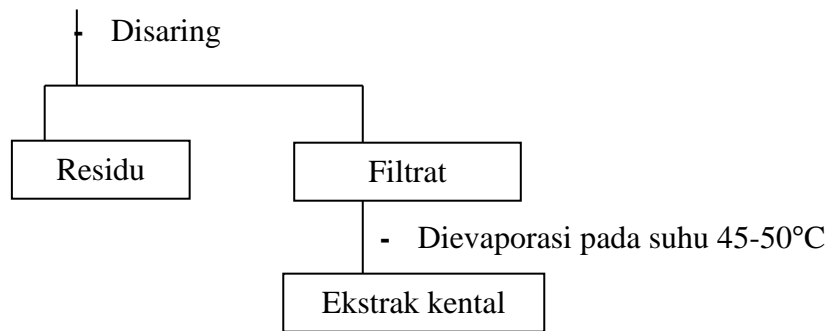
### 1. Ekstraksi Sampel

#### a. Ekstraksi Sarang Lebah



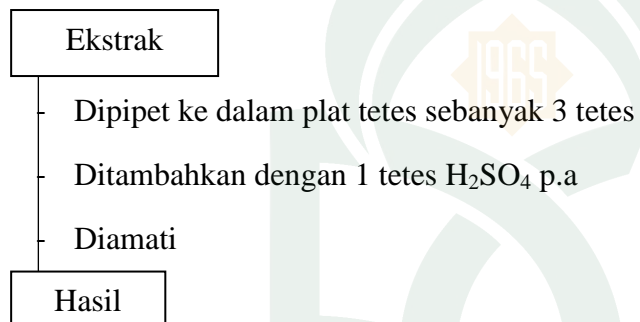
#### b. Ekstraksi madu hutan



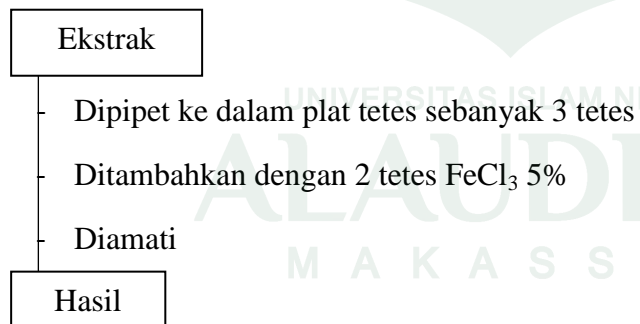


## 2. Skrining Fitokimia

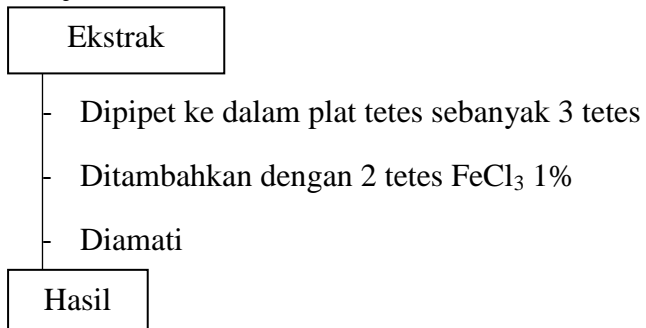
### a. Uji flavonoid



### b. Uji fenolik

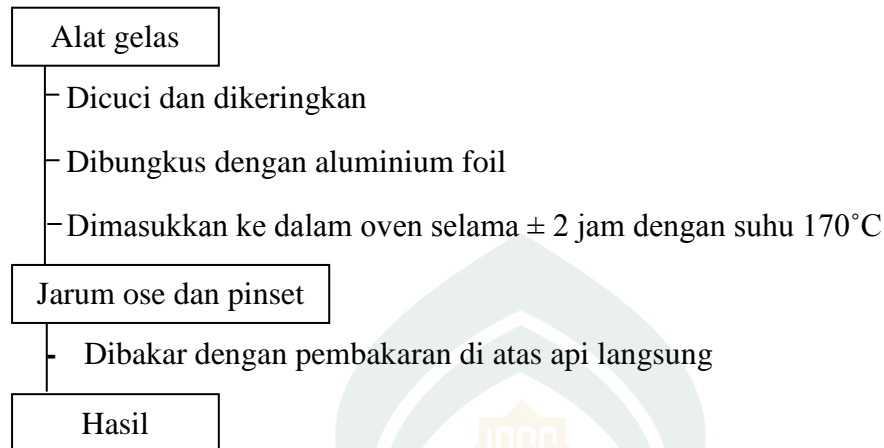


### c. Uji tanin

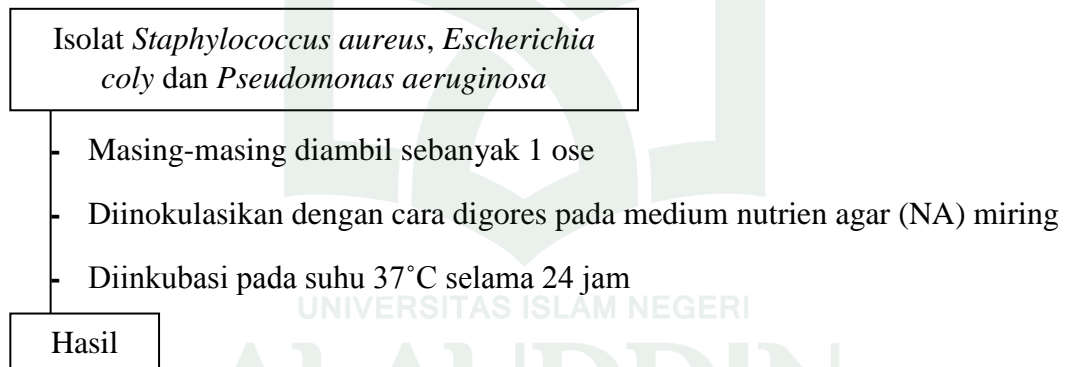


### 3. Aktivitas Antibakteri

#### a. Sterilisasi Alat

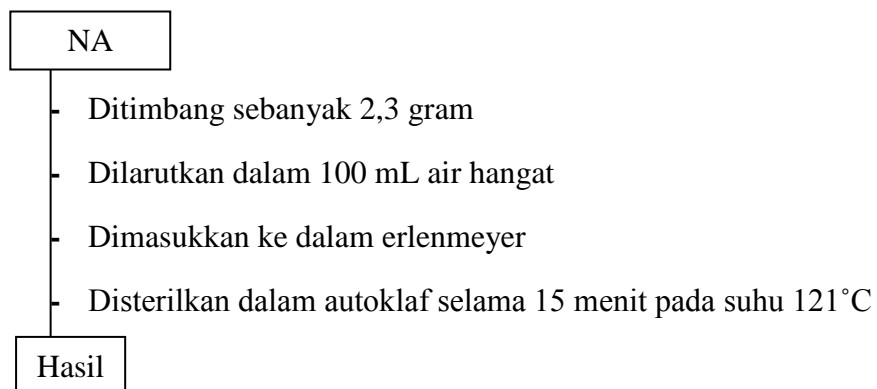


#### b. Peremajaan Bakteri Uji

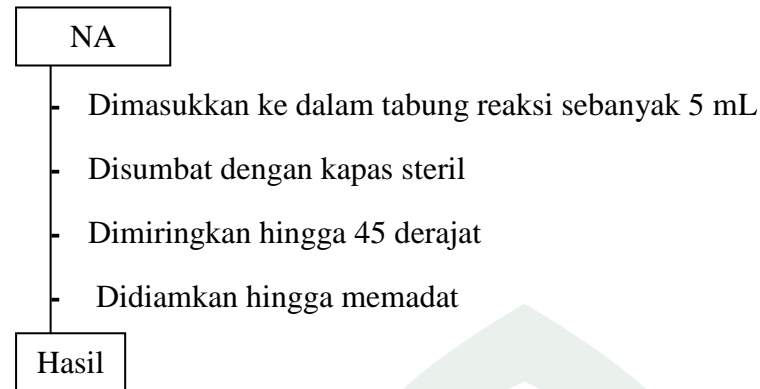


#### c. Pembuatan Media

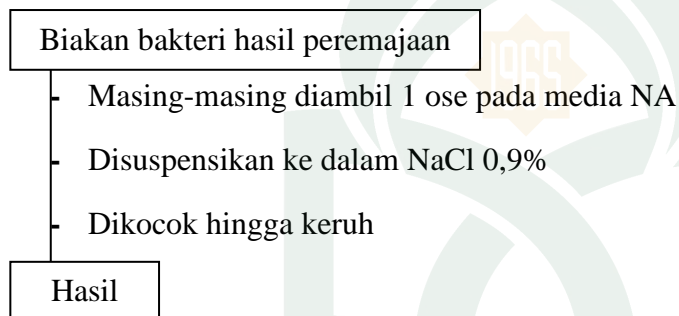
##### 1) Pembuatan Nutrien Agar (NA)



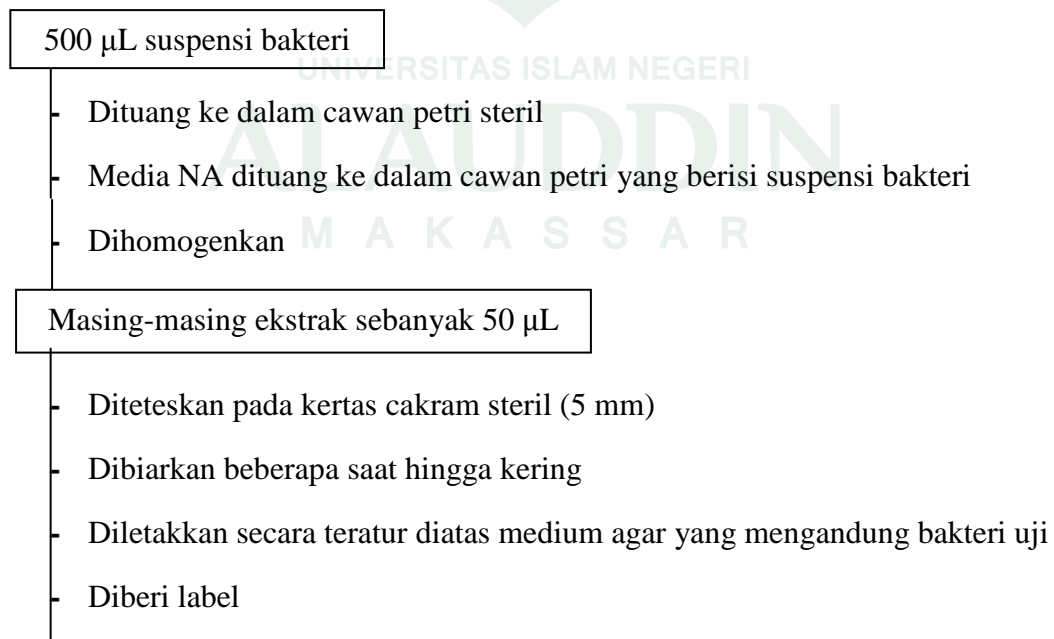
## 2) Pembuatan Agar miring



### d. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji



### e. Pengujian Aktivitas



Diinkubasi pada suhu 37°C selama 3 x 24 jam setiap 1 x 24 jam diukur zona bening yang terbentuk

Hasil





### Lampiran 3: Analisis Data

#### A. Pembuatan konsentrasi ekstrak

1. Konsentrasi 8% (b/v)

$$\begin{aligned}\frac{8 \text{ gr}}{100 \text{ mL}} &= \frac{x}{5 \text{ mL}} \\ x &= \frac{8 \text{ gr} \times 5 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} \\ &= 0,4 \text{ gr}\end{aligned}$$

2. Konsentrasi 6% (v/v)

$$\begin{aligned}\%_1 \times V_1 &= \%_2 \times V_2 \\ 8\% \times V_1 &= 6\% \times 2 \text{ mL} \\ V_1 &= \frac{6\% \times 2 \text{ mL}}{8\%} \\ &= 1,5 \text{ mL}\end{aligned}$$

3. Konsentrasi 4% (v/v)

$$\begin{aligned}\%_1 \times V_1 &= \%_2 \times V_2 \\ 8\% \times V_1 &= 4\% \times 2 \text{ mL} \\ V_1 &= \frac{4\% \times 2 \text{ mL}}{8\%} \\ &= 1 \text{ mL}\end{aligned}$$

4. Konsentrasi 2% (v/v)

$$\begin{aligned}\%_1 \times V_1 &= \%_2 \times V_2 \\ 8\% \times V_1 &= 2\% \times 2 \text{ mL} \\ V_1 &= \frac{2\% \times 2 \text{ mL}}{8\%} \\ &= 0,5 \text{ mL}\end{aligned}$$

## B. Diameter Daya Hambat

Ekstrak Metanol Sarang Lebah

a. 24 Jam

1) *Staphylococcus aureus*

a) Kontrol positif

$$SU = 23 \text{ mm}$$

$$SN = 3 \text{ mm} \times 0,02 = 0,06 \text{ mm}$$

$$= 23 \text{ mm} + 0,06 \text{ mm}$$

$$= 23,06 \text{ mm}$$

$$23,06 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 18,06 \text{ mm}$$

c) Konsentrasi 6%

$$SU = 7 \text{ mm}$$

$$SN = 16 \text{ mm} \times 0,02 = 0,32 \text{ mm}$$

$$= 7 \text{ mm} + 0,32 \text{ mm}$$

$$= 7,32 \text{ mm}$$

$$7,32 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 2,32 \text{ mm}$$

b) Konsentrasi 8%

$$SU = 7 \text{ mm}$$

$$SN = 32 \text{ mm} \times 0,02 = 0,64$$

$$= 7 \text{ mm} + 0,64 \text{ mm}$$

$$= 7,64 \text{ mm}$$

$$7,64 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 2,64 \text{ mm}$$

d) Konsentrasi 4%

$$SU = 6 \text{ mm}$$

$$SN = 15 \text{ mm} \times 0,02 = 0,3 \text{ mm}$$

$$= 6 \text{ mm} + 0,3 \text{ mm}$$

$$= 6,3 \text{ mm}$$

$$6,3 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 1,3 \text{ mm}$$

2) *Escherichia coli*

a) Kontrol positif

$$SU = 22 \text{ mm}$$

$$SN = 4 \text{ mm} \times 0,02 = 0,08$$

$$= 22 \text{ mm} + 0,08 \text{ mm}$$

$$= 22,08 \text{ mm}$$

$$22,08 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 17,08$$

c) Konsentrasi 6%

$$SU = 8 \text{ mm}$$

$$SN = 25 \text{ mm} \times 0,02 = 0,5$$

$$= 8 \text{ mm} + 0,5 \text{ mm}$$

$$= 8,5 \text{ mm}$$

$$8,5 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 3,5 \text{ mm}$$

b) Konsentrasi 8%

$$SU = 8 \text{ mm}$$

d) Konsentrasi 4%

$$SU = 7 \text{ mm}$$

$$SN = 40 \text{ mm} \times 0,02 = 0,8$$

$$= 8 \text{ mm} + 0,8 \text{ mm}$$

$$= 8,8 \text{ mm}$$

$$8,8 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 3,8 \text{ mm}$$

$$SN = 11 \text{ mm} \times 0,02 = 0,22 \text{ mm}$$

$$= 7 \text{ mm} + 0,22 \text{ mm}$$

$$= 7,22 \text{ mm}$$

$$7,22 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 2,22 \text{ mm}$$

### 3) *Pseudomonas aeruginosa*

#### a) Kontrol positif

$$SU = 24 \text{ mm}$$

$$SN = 36 \text{ mm} \times 0,02 = 0,72$$

$$= 24 \text{ mm} + 0,72 \text{ mm}$$

$$= 24,72 \text{ mm}$$

$$24,72 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 19,72 \text{ mm}$$

#### b. 48 Jam

##### 1) *Staphylococcus aureus*

#### a) Kontrol positif

$$SU = 23 \text{ mm}$$

$$SN = 14 \text{ mm} \times 0,02 = 0,28 \text{ mm}$$

$$= 23 \text{ mm} + 0,28 \text{ mm}$$

$$= 23,28 \text{ mm}$$

$$23,28 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 18,28 \text{ mm}$$

#### c) Konsentrasi 6%

$$SU = 8 \text{ mm}$$

$$SN = 26 \text{ mm} \times 0,02 = 0,52 \text{ mm}$$

$$= 8 \text{ mm} + 0,52 \text{ mm}$$

$$= 8,52 \text{ mm}$$

$$8,52 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 3,52 \text{ mm}$$

#### b) Konsentrasi 8%

$$SU = 8 \text{ mm}$$

$$SN = 38 \text{ mm} \times 0,02 = 0,76 \text{ mm}$$

$$= 8 \text{ mm} + 0,76 \text{ mm}$$

$$= 8,76 \text{ mm}$$

$$8,76 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 3,76 \text{ mm}$$

#### d) Konsentrasi 4%

$$SU = 7 \text{ mm}$$

$$SN = 31 \text{ mm} \times 0,02 = 0,62 \text{ mm}$$

$$= 7 \text{ mm} + 0,62 \text{ mm}$$

$$= 7,62 \text{ mm}$$

$$7,62 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 2,62 \text{ mm}$$

2) *Escherichia coli*

a) Kontrol positif

$$SU = 22 \text{ mm}$$

$$SN = 30 \text{ mm} \times 0,02 = 0,6$$

$$= 22 \text{ mm} + 0,6 \text{ mm}$$

$$= 22,6 \text{ mm}$$

$$22,6 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 17,6 \text{ mm}$$

c) Konsentrasi 6%

$$SU = 8 \text{ mm}$$

$$SN = 29 \text{ mm} \times 0,02 = 0,58 \text{ mm}$$

$$= 8 \text{ mm} + 0,58 \text{ mm}$$

$$= 8,58 \text{ mm}$$

$$8,58 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 3,58 \text{ mm}$$

b) Konsentrasi 8%

$$SU = 8 \text{ mm}$$

$$SN = 46 \text{ mm} \times 0,02 = 0,92 \text{ mm}$$

$$= 8 \text{ mm} + 0,92 \text{ mm}$$

$$= 8,92 \text{ mm}$$

$$8,92 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 3,92 \text{ mm}$$

d) Konsentrasi 4%

$$SU = 7 \text{ mm}$$

$$SN = 31 \text{ mm} \times 0,02 = 0,62 \text{ mm}$$

$$= 7 \text{ mm} + 0,62 \text{ mm}$$

$$= 7,62 \text{ mm}$$

$$7,62 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 2,62 \text{ mm}$$

3) *Pseudomonas aeruginosa*

c) Kontrol positif

$$SU = 25 \text{ mm}$$

$$SN = 13 \text{ mm} \times 0,02 = 0,26 \text{ mm}$$

$$= 25 \text{ mm} + 0,26 \text{ mm}$$

$$= 25,26 \text{ mm}$$

$$25,26 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 20,26 \text{ mm}$$

c) Konsentrasi 6%

$$SU = 7 \text{ mm}$$

$$SN = 25 \text{ mm} \times 0,02 = 0,5 \text{ mm}$$

$$= 7 \text{ mm} + 0,5 \text{ mm}$$

$$= 7,5 \text{ mm}$$

$$7,5 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 2,5 \text{ mm}$$

d) Konsentrasi 8%

$$SU = 7 \text{ mm}$$

$$SN = 33 \text{ mm} \times 0,02 = 0,66 \text{ mm}$$

$$= 7 \text{ mm} + 0,66 \text{ mm} = 7,66 \text{ mm}$$

$$7,66 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 2,66 \text{ mm}$$

d) Konsentrasi 4%

$$SU = 6,5 \text{ mm}$$

$$SN = 22 \text{ mm} \times 0,02 = 0,44 \text{ mm}$$

$$= 6,5 \text{ mm} + 0,44 \text{ mm} = 6,94 \text{ mm}$$

$$6,94 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 1,94 \text{ mm}$$

c. 72 Jam

1) *Staphylococcus aureus*

a) Kontrol positif

$$SU = 25 \text{ mm}$$

$$SN = 30 \text{ mm} \times 0,02 = 0,6 \text{ mm}$$

$$= 25 \text{ mm} + 0,6 \text{ mm}$$

$$= 25,6 \text{ mm}$$

$$25,6 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 20,6 \text{ mm}$$

b) Konsentrasi 8%

$$SU = 9 \text{ mm}$$

$$SN = 30 \text{ mm} \times 0,02 = 0,6 \text{ mm}$$

$$= 9 \text{ mm} + 0,6 \text{ mm}$$

$$= 9,6 \text{ mm}$$

$$9,6 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 4,6 \text{ mm}$$

c) Konsentrasi 6%

$$SU = 8,5 \text{ mm}$$

$$SN = 40 \text{ mm} \times 0,02 = 0,8 \text{ mm}$$

$$= 8,5 \text{ mm} + 0,8 \text{ mm}$$

$$= 9,3 \text{ mm}$$

$$9,3 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 4,3 \text{ mm}$$

d) Konsentrasi 4%

$$SU = 8 \text{ mm}$$

$$SN = 11 \text{ mm} \times 0,02 = 0,22 \text{ mm}$$

$$= 8 \text{ mm} + 0,22 \text{ mm}$$

$$= 8,22 \text{ mm}$$

$$8,22 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 3,22 \text{ mm}$$

2) *Escherichia coli*

a) Kontrol positif

$$SU = 23 \text{ mm}$$

$$SN = 34 \text{ mm} \times 0,02 = 0,68 \text{ mm}$$

$$= 23 \text{ mm} + 0,68 \text{ mm}$$

$$= 23,68 \text{ mm}$$

$$23,68 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 18,68 \text{ mm}$$

b) Konsentrasi 8%

$$SU = 9 \text{ mm}$$

$$SN = 19 \text{ mm} \times 0,02 = 0,38 \text{ mm}$$

$$= 9 \text{ mm} + 0,38 \text{ mm}$$

c) Konsentrasi 6%

$$SU = 8,5 \text{ mm}$$

$$SN = 5 \text{ mm} \times 0,02 = 0,1 \text{ mm}$$

$$= 8,5 \text{ mm} + 0,1 \text{ mm}$$

$$= 8,6 \text{ mm}$$

$$8,6 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 3,6 \text{ mm}$$

d) Konsentrasi 4%

$$SU = 8 \text{ mm}$$

$$SN = 25 \text{ mm} \times 0,02 = 0,5 \text{ mm}$$

$$= 8 \text{ mm} + 0,5 \text{ mm}$$

$$= 9,38 \text{ mm}$$

$$9,38 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 4,38 \text{ mm}$$

$$= 8,5 \text{ mm}$$

$$8,5 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 3,5 \text{ mm}$$

### 3) *Pseudomonas aeruginosa*

#### a) Kontrol positif

$$\text{SU} = 28 \text{ mm}$$

$$\text{SN} = 41 \text{ mm} \times 0,02 = 0,82 \text{ mm}$$

$$= 28 \text{ mm} + 0,82 \text{ mm}$$

$$= 28,82 \text{ mm}$$

$$28,82 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 23,82 \text{ mm}$$

#### c) Konsentrasi 6%

$$\text{SU} = 7 \text{ mm}$$

$$\text{SN} = 29 \text{ mm} \times 0,02 = 0,58$$

$$= 7 \text{ mm} + 0,58 \text{ mm}$$

$$= 7,58 \text{ mm}$$

$$7,58 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 2,58 \text{ mm}$$

#### b) Konsentrasi 8%

$$\text{SU} = 7 \text{ mm}$$

$$\text{SN} = 42 \text{ mm} \times 0,02 = 0,84 \text{ mm}$$

$$= 7 \text{ mm} + 0,84 \text{ mm} = 7,84 \text{ mm}$$

$$7,84 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 2,84$$

#### d) Konsentrasi 4%

$$\text{SU} = 6,5 \text{ mm}$$

$$\text{SN} = 28 \text{ mm} \times 0,02 = 0,56 \text{ mm}$$

$$= 6,5 \text{ mm} + 0,56 \text{ mm} = 7,06 \text{ mm}$$

$$7,06 \text{ mm} - 5 \text{ mm} = 2,06 \text{ mm}$$

## Lampiran 4: Dokumentasi Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Sarang Lebah dan Madu Hutan

### Lampiran 4.1 Preparasi sampel



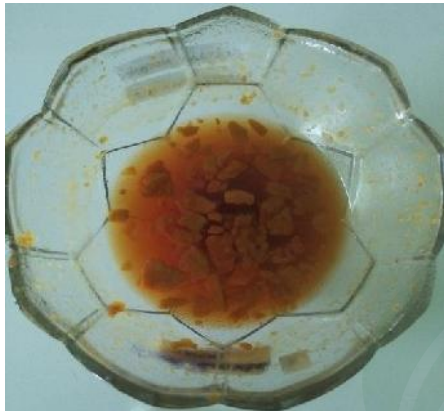
Sarang Lebah



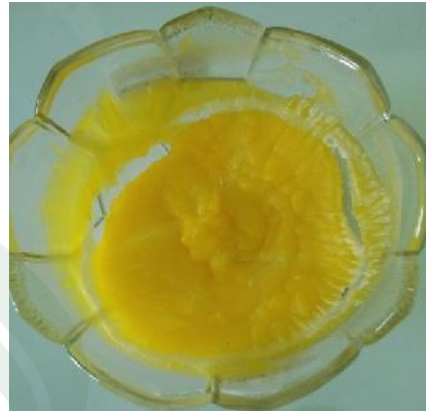
Madu Hutan



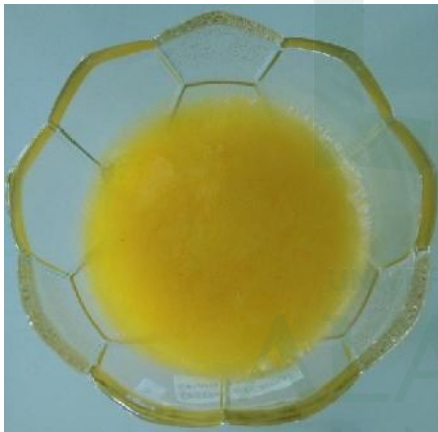
#### Lampiran 4.2 Warna Ekstrak Sampel Uji



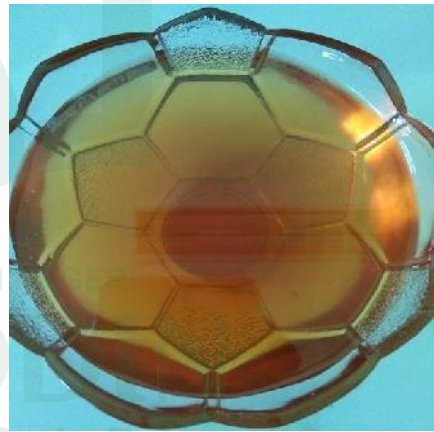
Ekstrak metanol sarang lebah



Ekstrak n-heksan sarang lebah



Ekstrak etil asetat sarang lebah



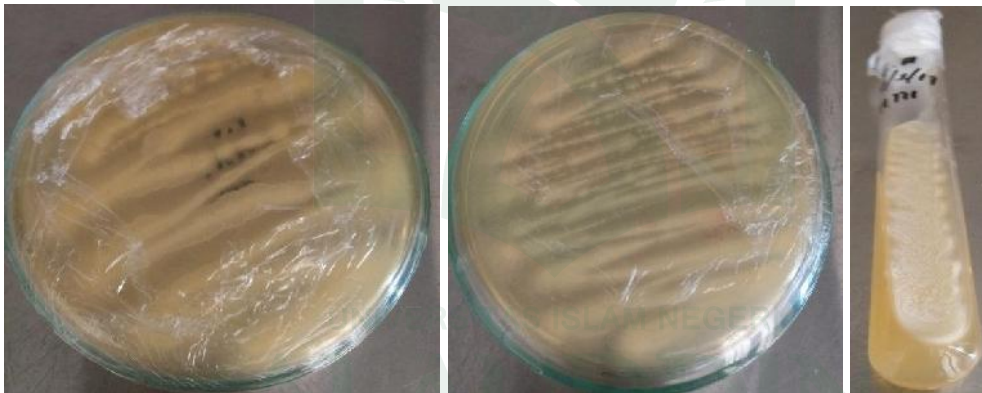
Ekstrak methanol madu



Lampiran 4.3 Peremajaan dan Suspensi Bakteri Uji (*Pseudomonas aeruginosa*,  
*Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*)



Isolat bakteri uji



Bakteri hasil peremajaan setelah mengambil satu ose dari isolate bakteri uji

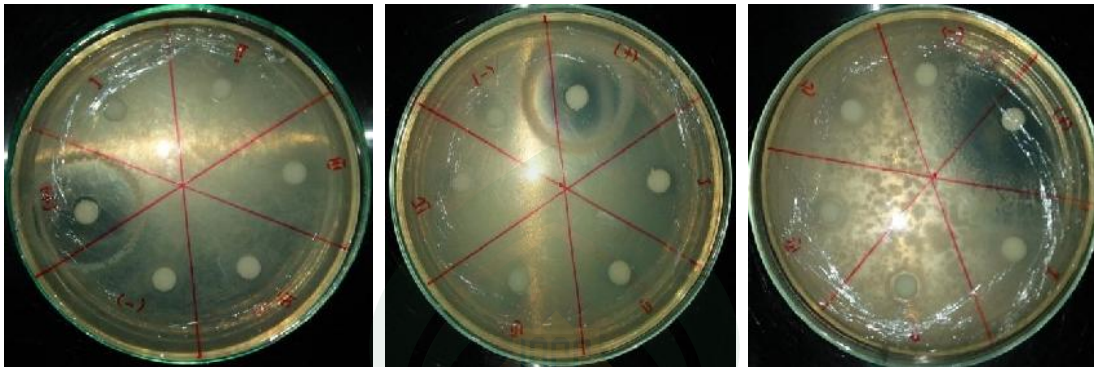


Suspensi bakteri uji dengan menggunakan natrium klorida (NaCl) 0,9%

#### Lampiran 4.4 Pengukuran diameter zona hambat

##### 1. Ekstrak metanol madu kolaka

###### a. 24 jam

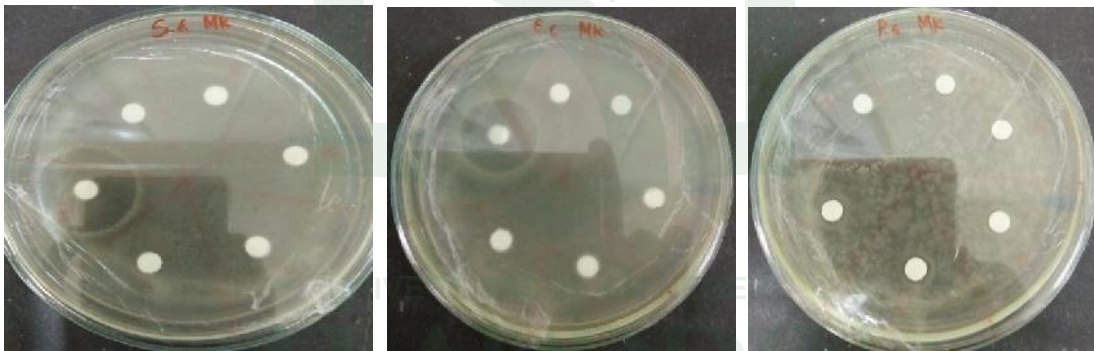


*Staphylococcus aureus*

*Escherichia coli*

*Pseudomonas aeruginosa*

###### b. 48 jam

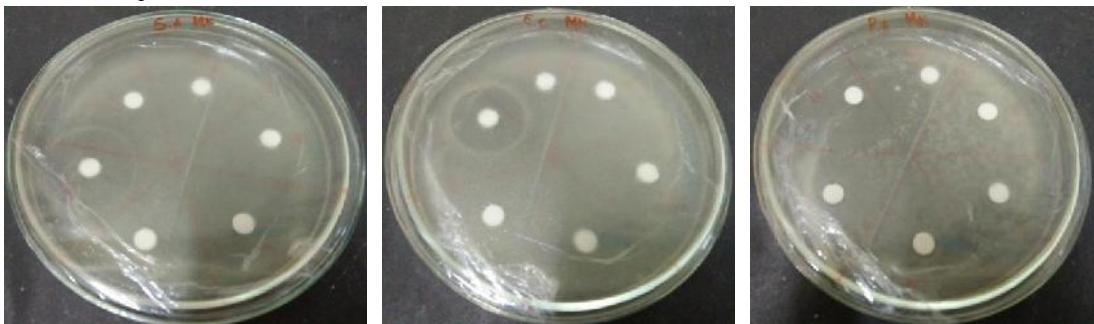


*Staphylococcus aureus*

*Escherichia coli*

*Pseudomonas aeruginosa*

###### c. 72 jam



*Staphylococcus aureus*

*Escherichia coli*

*Pseudomonas aeruginosa*

## 2. Ekstrak metanol sarang lebah

### a. 24 jam



*Staphylococcus aureus*

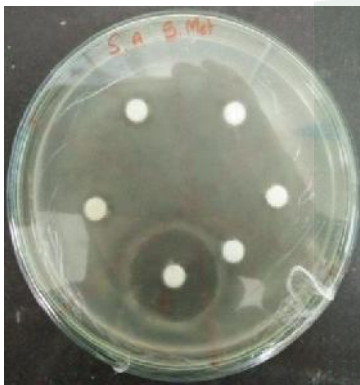


*Escherichia coli*

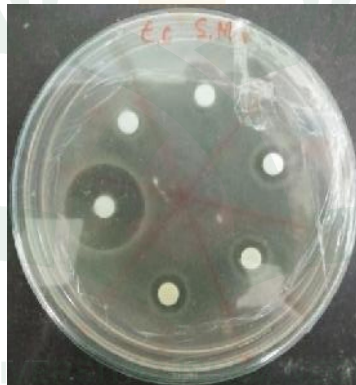


*Pseudomonas aeruginosa*

### b. 48 jam



*Staphylococcus aureus*

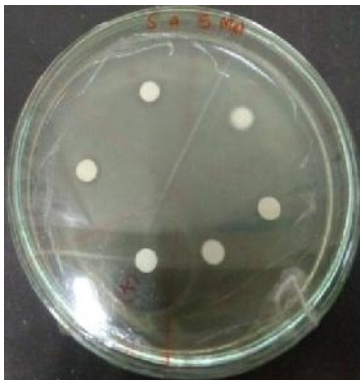


*Escherichia coli*

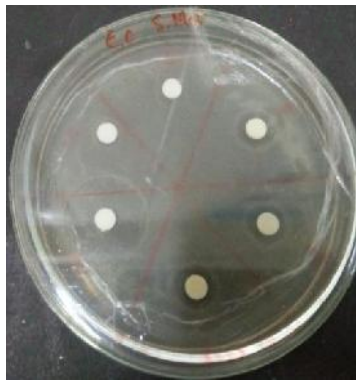


*Pseudomonas aeruginosa*

### c. 72 jam



*Staphylococcus aureus*



*Escherichia coli*

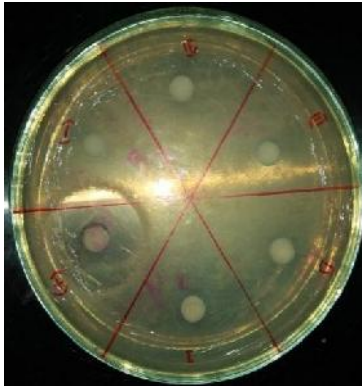


*Pseudomonas aeruginosa*



### 3. Ekstrak etil asetat sarang lebah

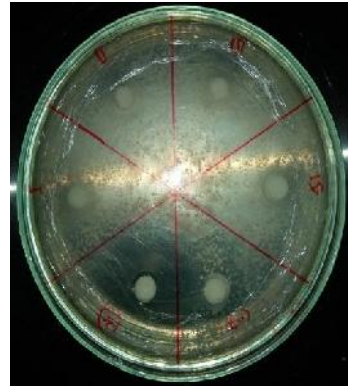
a. 24 jam



*Staphylococcus aureus*

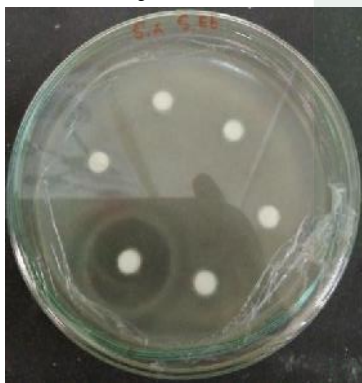


*Escherichia coli*

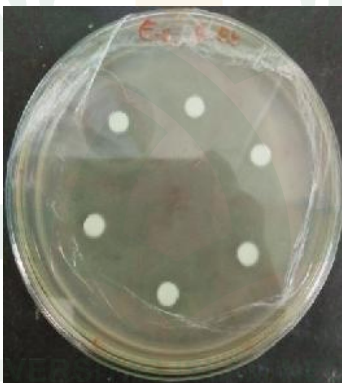


*Pseudomonas aeruginosa*

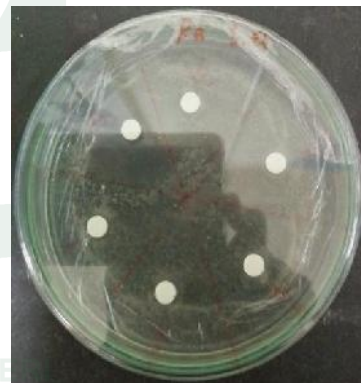
b. 48 jam



*Staphylococcus aureus*

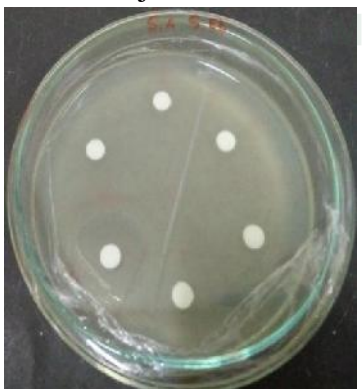


*Escherichia coli*



*Pseudomonas aeruginosa*

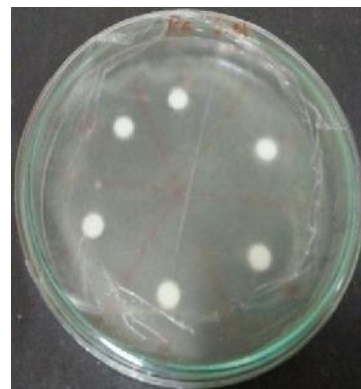
c. 72 jam



*Staphylococcus aureus*



*Escherichia coli*



*Pseudomonas aeruginosa*

#### 4. Ekstrak n-heksan sarang lebah

a. 24 jam



*Staphylococcus aureus*



*Escherichia coli*

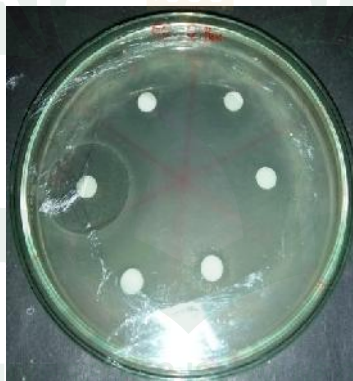


*Pseudomonas aeruginosa*

b. 48 jam



*Staphylococcus aureus*



*Escherichia coli*



*Pseudomonas aeruginosa*

c. 72 jam



*Staphylococcus aureus*



*Escherichia coli*



*Pseudomonas aeruginosa*

## BIOGRAFI



**Ika Prestianti** lahir di Woimenda, Kabupaten Kolaka Sulawesi Tenggara pada tanggal 05 Oktober 1996. Anak tunggal, buah kasih dari ayahanda Ismail Nur dan ibunda Baruwati Tasrif. Mulai memasuki jenjang pendidikan pada tahun 2002 di SD Negeri 1 Iwoimendaa dan tamat pada tahun 2007. Pada tahun yang sama melanjutkan pendidikan ke MTs Al-Ikhlas Iwoimendaa dan tamat pada tahun 2010. Kemudian melanjutkan pendidikan di MAN Wolo dan tamat pada tahun 2013. Pada tahun yang sama pula melalui jalur Ujian Masuk Mandiri (UMM) lulus masuk Perguruan Tinggi Negeri Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar Fakultas Sains dan Teknologi Jurusan Kimia. Pada tahun 2014 mulai bergabung dengan salah satu unit kegiatan mahasiswa yaitu UKM-KSR PMI UNIT 107 UIN Alauddin Makassar dan pada tahun 2016 berhasil di lantik sebagai salah satu pengurus di organisasi daerah yakni ikatan mahasiswa pelajar pemuda kolaka (IMPPAK) Makassar.